



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0013350
(43) 공개일자 2015년02월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/08 (2006.01) C07K 7/06 (2006.01)
C07K 7/08 (2006.01) C07K 14/475 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2015-7000046(분할)
(22) 출원일자(국제) 2003년12월19일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2013-7033417
원출원일자(국제) 2003년12월19일
심사청구일자 2014년01월15일
(85) 번역문제출일자 2015년01월02일
(86) 국제출원번호 PCT/US2003/040781
(87) 국제공개번호 WO 2004/058988
국제공개일자 2004년07월15일
(30) 우선권주장
60/435,923 2002년12월20일 미국(US)

(71) 출원인
암젠 인코포레이티드
미국 캘리포니아 91320-1799 싸우전드 오크스 원
암젠센터 드라이브
(72) 발명자
한, 에이치큐
미국 91362 캘리포니아주 싸우전드 오크스 크로스
랜드 스트리트 3353
민, 호성
미국 91320 캘리포니아주 뉴버리 파크 코너 코트
3875
분, 토마스 찰스
미국 91320 캘리포니아주 뉴버리 파크 마이클 드
라이브 2805
(74) 대리인
장수길, 김영

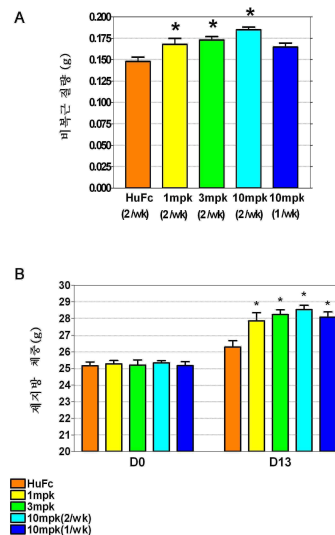
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 미오스타틴을 저해하는 결합제

(57) 요약

본 발명은 미오스타틴에 결합하여 그의 활성을 저해할 수 있는 펩티드들을 포함하는 결합제에 관한 것이다. 한 실시태양에서, 결합제는 중합체 또는 Fc 도메인과 같은 하나 이상의 비히클에 직접적으로 또는 간접적으로 부착되는 하나 이상의 미오스타틴-결합 펩티드를 포함한다. 본 발명의 결합제는 동물에게 투여시 체지방 근육량을 증가시키며 지방 대 근육의 비를 감소시켰다. 본 발명의 결합제를 함유하는 치료적 조성물은 근육 소모 장애들, 및 당뇨병과 비만을 포함하는 다른 대사장애들을 치료하는데 있어서 유용하다.

대표도



특허청구의 범위

청구항 1

아미노산 서열 WMCPP(서열번호: 633)을 포함하며 미오스타틴과 결합할 수 있는 하나 이상의 펩티드, 또는 그의 생리학적 허용되는 염을 포함하는, 근육 소모증 또는 미오스타틴-관련 대사 장애를 치료하기 위한 결합제의 용도.

명세서

기술분야

[0001] 본 출원은 미국 가출원 제60/435,923호(출원일 2002. 12. 20)(본원에 그 전체가 참고로 인용됨)의 이익을 주장한다.

[0002] 본 발명은 성장 인자, 특히 성장 인자 미오스타틴 및 미오스타틴에 결합하여 그 활성을 저해하는 물질에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 성장/분화 인자 8(GDF-8)로도 알려져 있는 미오스타틴은 골격 근육 물질의 조절에 관여하는 것으로 알려진 형질 전환 성장 인자- β (TGF- β) 계열의 일원이다. TGF- β 계열의 대부분의 구성원은 다수의 조직 유형에서 비특이적으로 발현되고, 다양한 다형질 발현성 작용을 발휘한다. 그러나, 미오스타틴은 주로 발생 세포 및 성인 골격 근육 조직에서 발현되고, 골격 근육의 성장을 음성적으로 조절하는데 있어서 중요한 역할을 한다(McPherron 등, *Nature* (London) **387**, 83-90 (1997)). 그러나, 최근의 연구는 낮은 수준의 미오스타틴 발현이 심장, 지방 및 전지방 조직에서 측정될 수 있다는 것을 나타낸다.

[0004] 미오스타틴 단백질은 진화적으로 고도로 보존된 것이다(McPherron 등, *PNAS USA* **94**:12457-12461 (1997)). 생물학적으로 활성이 있는 미오스타틴의 C-말단 영역은 인간, 마우스, 래트, 소, 닭 및 칠면조 서열에서 100%의 서열 동일성을 갖는다. 또한, 미오스타틴의 기능도 마찬가지로 종에 걸쳐서 보존된 것으로 보인다. 이는 미오스타틴 유전자에 돌연변이를 갖는 동물의 표현형으로부터 명백하다. 두 품종의 소, 벨기에 블루(Belgian Blue)(Hanset R., *Muscle Hypertrophy of Genetic Origin and its Use to Improve Beef Production*, eds, King, J.W.G. & Menissier, F. (Nijhoff, The Hague, The Netherlands) pp. 437-449)와 피에드몬테스(Piedmontese)(Masoero, G. & Poujardieu, B, *Muscle Hypertrophy of Genetic Origin and its Use to Improve Beef Production*, eds, King, J.W.G. & Menissier, F. (Nijhoff, The Hague, The Netherlands) pp. 450-459)는 "이중 근육화" 표현형 및 근육 질량의 증가로 특징지어진다. 이들 품종은 미오스타틴 유전자의 코딩 영역에서 돌연변이를 함유하는 것으로 나타났다(McPherron 등, (1997) 상기 참조). 아울러, 미오스타틴을 코딩하는 유전자(Mstn)를 목표로 한 결실을 함유하는 마우스는 극적인 근육 질량의 증가를 나타낸다(상응하는 지방의 증가 없이). Mstn^{-/-} 마우스의 개개의 근육은 근섬유 비대 및 과다형성의 결과로 대조군 동물보다 약 100 내지 200% 더 무게가 나간다(Zimmers 등, *Science* **296**, 1486 (2002)).

[0005] 특정 변종의 마우스에 미오스타틴을 투여하면, 예를 들어, 암, AIDS 및 근이영양증과 관련된 것으로 밝혀진 근육 소모증과 유사한 증상을 생성한다. 무흉선 누드 마우스에 미오스타틴을 미오스타틴-생성 CHO 세포로 투여하면, 높은 수준의 체중 손실, 50% 정도까지의 골격 근육 질량의 감소와 아울러 지방 소모와 심각한 저혈당증을 동반하는 소모증 효과를 초래한다(Zimmers 등, 상기 참조).

[0006] 미오스타틴의 감소는 근육 질량의 유지 및 나이에 따른 지방 축적의 감소를 가져온다. Mstn^{-/-} 성인 녀아웃 마우스와 비교하여 Mstn^{+/+}에서의 지방 및 근육 질량을 결정한 것과 같이, 나이에 따른 지방 조직 질량의 증가와 근육 질량의 감소는 미오스타틴 수준과 비례하는 것으로 밝혀졌다(McFerron 등, *J. Clin. Invest* **109**, 595 (2002)). Mstn^{-/-} 마우스는 Mstn^{+/+} 마우스와 비교하여 나이에 따라 감소된 지방 축적을 나타냈다.

[0007] 아울러, 미오스타틴은 혈당 수준을 유지하는 역할을 하며, 특정한 경우에 당뇨의 발생에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 인슐린-자극된 글루코스 흡수에 대한 골격 근육의 내성은 비인슐린-의존성(타입 2) 당뇨병의 알려진

초기 증상이다(Corregan 등, *Endocrinology* **128**:1682 (1991)). 미오스타틴의 감소는 두 마우스 모델, 아고우티 치명적 옐로(agouti lethal yellow)(A^y) Yen 등, *FASEB J.* **8**:479 (1994)) 및 오비스(obese)(Lep^{ob/ob})의 비만 및 당뇨 표현형을 부분적으로 감소시키는 것으로 나타났다. A^{y/a}, Mstn^{-/-} 이중 돌연변이체 마우스의 지방 축적 및 총 체중은 A^{y/a} Mstn^{+/+} 마우스와 비교하여 극적으로 감소하였다(McFerron 등, (2002) 상기 참조). 아울러 A^{y/a}, Mstn^{-/-} 마우스에서의 혈당 수준은 외부에서 글루코스를 부가한 후 A^{y/a} Mstn^{+/+} 마우스에 비해 극적으로 낮아서, 미오스타틴의 감소가 글루코스 대사를 증가시킨다는 것을 나타내었다. 또한, Lep^{ob/ob} Mstn^{-/-} 마우스는 Lep^{ob/ob} Mstn^{+/+}에 비해 감소된 지방 축적을 나타내었다.

[0008] 따라서, 과발현 및 녹아웃 동물의 표현형으로부터, 미오스타틴이 근육 소모증, 당뇨병, 비만증 및 고혈당을 초래하는 질환을 비롯하여 다수의 대사 질환에 기여할 수 있다는 상당한 증거가 있다.

발명의 내용

[0009] 발명의 개요

[0010] 본 발명은 미오스타틴에 결합하고 그 활성을 저해하는 결합제에 관한 것이다. 결합제는 미오스타틴에 결합할 수 있는 하나 이상의 펩티드를 포함한다. 미오스타틴-결합 펩티드는 바람직하게는 그 길이가 약 5 내지 50개의 아미노산, 보다 바람직하게는 약 10 내지 30개의 아미노산, 가장 바람직하게는 약 10 내지 25개의 아미노산이다. 한 실시태양에서, 미오스타틴-결합 펩티드는 WMCPP(서열번호:633)의 아미노산을 포함한다. 다른 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 C_{a1}a₂W_{a3}WMCPP (서열번호: 352)(여기서 a₁, a₂ 및 a₃는 소수성, 중성 극성, 또는 염기성 아미노산으로부터 선택됨)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 C_{b1}b₂W_{b3}WMCPP (서열번호: 353)(여기서, b₁은 아미노산 T, I 및 R 중 임의의 하나로 선택되고; b₂는 R, S 및 Q 중 임의의 하나로 선택되며; b₃는 P, R 및 Q 중 임의의 하나로 선택되고; 여기서, 펩티드의 길이는 10 내지 50개의 아미노산임)의 서열 및 생리학상 허용되는 그의 염을 포함한다. 다른 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 하기 식의 서열 및 생리학상 허용되는 그의 염을 포함한다:

[0011] c₁c₂c₃c₄c₅c₆C₇C₈W_{c9}WMCPPc₁₀c₁₁c₁₂c₁₃ (서열번호: 354):

[0012] [여기서, c₁은 비존재하거나 또는 임의의 아미노산이고;

[0013] c₂는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이며;

[0014] c₃는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이고;

[0015] c₄는 비존재하거나 또는 임의의 아미노산이며;

[0016] c₅는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성, 또는 산성 아미노산이고;

[0017] c₆는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이며;

[0018] c₇은 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이고;

[0019] c₈은 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이며;

[0020] c₉은 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이고;

[0021] c₁₀ 내지 c₁₃은 임의의 아미노산이고이며;

[0022] 여기서, 펩티드의 길이는 20 내지 50개의 아미노산임].

[0023] 관련 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 하기 식의 서열 및 생리학상 허용되는 그의 염을 포함한다:

[0024] d₁d₂d₃d₄d₅d₆Cd₇d₈W_{d9}WMCPPd₁₀d₁₁d₁₂d₁₃(서열번호: 355)

[0025] [여기서, d₁은 비존재하거나 또는 임의의 아미노산이고;

- [0026] d_2 는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이며;
- [0027] d_3 는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이고;
- [0028] d_4 는 비존재하거나 또는 임의의 아미노산이며;
- [0029] d_5 는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이고;
- [0030] d_6 는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이며;
- [0031] d_7 은 아미노산 T, I, 및 R 중 임의의 하나로 선택되고;
- [0032] d_8 은 R, S 및 Q 중 임의의 하나로 선택되며;
- [0033] d_9 은 P, R 및 Q 중 임의의 하나로 선택됨;
- [0034] d_{10} 내지 d_{13} 은 임의의 아미노산으로부터 선택되며,
- [0035] 여기서, 펩티드의 길이는 20 내지 50개의 아미노산임].
- [0036] 결합체의 추가의 실시형태는 하나 이상의 하기 펩티드를 포함한다:
- [0037] (1) $\text{WYe}_1\text{e}_2\text{Ye}_3\text{G}$ (서열번호: 356)의 서열을 포함하고, 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드 및 그의 생리학상 허용되는 염;
- [0038] [여기서, e_1 은 P, S 또는 Y이고,
- [0039] e_2 는 C 또는 Q이며,
- [0040] e_3 는 G 또는 H이고,
- [0041] 여기서, 펩티드의 길이는 7 내지 50개의 아미노산임]
- [0042] (2) $f_1\text{EMLf}_2\text{SLf}_3\text{f}_4\text{LL}$ (서열번호: 455)의 서열을 포함하고, 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드 및 그의 생리학상 허용되는 염;
- [0043] [여기서, f_1 은 M 또는 I이고;
- [0044] f_2 는 임의의 아미노산이며,
- [0045] f_3 는 L 또는 F이고,
- [0046] f_4 는 E, Q 또는 D이며,
- [0047] 여기서, 펩티드의 길이는 7 내지 50개의 아미노산임]
- [0048] (3) $\text{Lg}_1\text{g}_2\text{LLg}_3\text{g}_4$ (서열번호: 456)의 서열을 포함하고, 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드 및 그의 생리학상 허용되는 염;
- [0049] [여기서, g_1 은 Q, D 또는 E이고,
- [0050] g_2 는 S, Q, D 또는 E이며,
- [0051] g_3 는 임의의 아미노산이고,
- [0052] g_4 는 L, W, F, 또는 Y이며,
- [0053] 여기서 펩티드의 길이는 8 내지 50개의 아미노산임]
- [0054] (4) $h_1h_2h_3h_4h_5h_6h_7h_8h_9$ (서열번호: 457)의 서열을 포함하고, 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드 및 그의 생리학

상 허용되는 염;

[0055] [여기서, h_1 은 R 또는 D이고,

[0056] h_2 는 임의의 아미노산이며,

[0057] h_3 는 A, T, S 또는 Q이고,

[0058] h_4 는 L 또는 M이며,

[0059] h_5 는 L 또는 S이고,

[0060] h_6 는 임의의 아미노산이며,

[0061] h_7 은 F 또는 E이고,

[0062] h_8 은 W, F 또는 C이며,

[0063] h_9 은 L, F, M 또는 K이고,

[0064] 여기서, 펩티드의 길이는 9 내지 50개의 아미노산임].

[0065] 한 실시태양에서, 본 발명의 결합제는 중합체 또는 Fc 도메인과 같은 하나 이상의 비히클을 추가로 포함하고, 하나 이상의 링커 서열을 추가로 포함할 수 있다. 이 실시태양에서, 본 발명의 결합제는 하나 이상의 미오스타틴-결합제 펩티드가 하나 이상의 비히클에 부착되도록 제작된다. 펩티드 또는 펩티드들은 직접적으로 또는 링커 서열을 통해 간접적으로, 펩티드의 N-말단, C-말단 또는 아미노산 측쇄에 부착된다. 이 실시태양에서, 본 발명의 결합제는 하기 일반식을 가진다:

[0066] $(X^1)_a-F^1-(X^2)_b$, 또는 이들의 다량체 및 그의 생리학상 허용되는 염;

[0067] [여기서, F^1 은 비히클이고; X^1 및 X^2 는 각각 독립적으로

$-(L^1)_c-P^1$;

$-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$;

$-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$;

및 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$

[0068]로부터 선택되고;

[0069] 여기서, P^1 , P^2 , P^3 , 및 P^4 는 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드이고;

[0070] L^1 , L^2 , L^3 , 및 L^4 는 각각 링커이고; a, b, c, d, e, 및 f는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 단 a 및 b 중 최소한 하나는 1임].

[0071] 이 일반식의 구조를 갖는 다양한 실시형태의 결합제 중에서, 펩티드 P^1 , P^2 , P^3 및 P^4 는 상기에서 주어진 서열을 포함하는 하나 이상의 임의의 펩티드로부터 독립적으로 선택될 수 있다. P^1 , P^2 , P^3 및 P^4 는 독립적으로 임의의 하기 서열을 포함하는 하나 이상의 펩티드로부터 선택된다: 서열번호: 633, 서열번호: 352, 서열번호: 353, 서열번호: 354, 서열번호: 355, 서열번호: 356, 서열번호: 455, 서열번호: 456 또는 서열번호: 457.

[0072] 추가 실시태양에서, 결합제는 Fc 도메인에 직접적으로 또는 간접적으로 융합되어 펩티바디를 제공하는 펩티드를 포함한다. 본 발명의 펩티바디는 미오스타틴에 대해 높은 결합 친화력을 나타내고, 세포 기재 분석을 이용한 시험관내 실험 및 동물 실험 모두에서 증명된 바와 같이, 미오스타틴의 활성을 저해할 수 있다.

[0073] 또한, 본 발명은 본 발명의 펩티드, 펩티바디 및 펩티드 및 펩티바디의 변이체 및 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 분자를 제공한다.

[0074] 본 발명은 하나 이상의 본 발명의 결합제를 포함하는 제약학상 허용되는 조성물을 제공한다.

[0075] 본 발명의 결합제는 시험관내 실험 및 생체내 실험에서 미오스타틴 활성을 저해한다. 본 발명의 결합제는 처리

된 동물에서 제지방 근육량을 증가시키고, 동물의 체중 %로 지방 질량을 감소시킨다. 본 발명의 미오스타틴 결합제는 처리된 동물 모델에서 근육을 증가시킨다.

[0076] 본 발명은 하나 이상의 결합제의 유효량을 개체에게 투여하여 인간을 비롯한 동물에서 미오스타틴 활성을 저해하는 방법을 제공한다. 본 발명은 하나 이상의 결합제의 유효량을 투여하여 인간을 비롯한 동물에서 제지방 근육량을 증가시키는 방법을 제공한다. 추가적으로, 본 발명은 제약학상 허용되는 조성물 중 하나 이상의 미오스타틴 결합제의 제약학적으로 유효한 양을 개체에게 투여하여 미오스타틴-관련 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 근이영양증, 암으로 인한 근육 소모증, AIDS, 류마티스성 관절염, 신부전, 요독증, 만성 심부전, 연령-관련 근감소증(sarcopenia), 장기간의 침상안정, 척수 손상, 뇌졸중, 골절 등을 비롯한 근육 소모증을 치료하는 방법을 제공한다. 또한, 본 발명은 비만증, 당뇨병, 고혈당증 및 골소실을 비롯한 대사 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

[0077] 또한, 본 발명은 하나 이상의 미오스타틴 결합제의 유효량을 동물에게 투여하여 식용 동물에서 근육 질량을 증가시키는 방법을 제공한다.

[0078] 본 발명은 시료 중의 미오스타틴을 확인하고, 정량화하기 위해 하나 이상의 미오스타틴 결합제를 사용하는 분석법을 제공한다. 분석법은 미오스타틴 관련 질환 또는 질병을 가진 개체에서 미오스타틴을 측정하거나 또는 모니터링하기 위한 진단적 분석일 수 있다.

[0079] **발명의 상세한 설명**

[0080] 본 발명은 미오스타틴에 결합할 수 있고 그 활성을 저해할 수 있는 결합제를 제공한다. 미오스타틴 결합제는 동물에서 미오스타틴 수준을 동정하거나, 정량하거나 또는 모니터링하기 위해서 분석에서 사용될 수 있다. 본 발명의 미오스타틴 결합제는 미오스타틴 활성을 감소시킨다. 본 발명의 미오스타틴 결합제는 동물의 제지방 근육량을 증가시키고, 체중 %로서 지방 질량을 감소시키고, 근육을 증가시킨다. 본 발명의 미오스타틴 결합제는 제약학상 허용되는 조성물 중에 하나 이상의 치료적 유효량의 결합제를 개체에게 투여하여, 근이영양증, 암으로 인한 근육 소모증, AIDS, 류마티스성 관절염, 신부전, 요독증, 만성 심부전, 장기간의 침상안정, 척수 손상, 뇌졸중 및 연령-관련 근감소증과 같은 근육 소모증과 아울러, 당뇨병, 비만증, 고혈당증 및 골 소실을 비롯한 대사 질환을 비롯하여, 미오스타틴이 역할을 하는 다양한 대사 질환을 치료하는 방법을 제공한다.

[0081] **미오스타틴**

[0082] GDF-8로도 알려진 성장 인자인 미오스타틴은 골격 근육 조직의 음성 조절자로 알려져 있다. 미오스타틴은 단백질 분해 절단에 의해 활성화되는 비활성 프리프로단백질로 합성된다(Zimmers 등., (2002) 상기 참조). 전구체 단백질은 절단되어서 NH₂-말단 비활성 프로도메인 및 동종이량체 형태의 약 25 kDa의 성숙한 활성 형태인 약 109개의 아미노산의 COOH-말단 단백질을 생성한다(Zimmers 등., (2002) 상기 참조). 성숙한 이량체는 프로펩티드에 결합된 비활성의 휴면 복합체로 혈액을 순환하는 것으로 생각된다(Zimmers 등., (2002) 상기 참조).

[0083] 본원에서 사용된 "전장 미오스타틴"은 문헌[McPherron 등, 상기 참조 (1997)]에 기술된 전장 인간 프리프로단백질 서열과 아울러 또한 문헌[McPherron 등, 상기 참조 (1997)]에 기술된 대립 유전형질 변이체 및 중간 상동체를 비롯한 관련 전장 폴리펩티드를 지칭한다. 본원에서 사용된 "프로도메인" 또는 "프로펩티드"는 절단되어서 활성 COOH-말단 단백질을 방출하는 비활성 NH₂-말단 단백질을 지칭한다. 본원에서 사용된 "미오스타틴" 또는 "성숙 미오스타틴"은 단량체, 이량체, 다량체 형태 또는 기타 형태의 성숙한 생물학적 활성 COOH-말단 폴리펩티드를 지칭한다. 또한, "미오스타틴" 또는 "성숙 미오스타틴"은 생물학적 활성 성숙 미오스타틴의 단편과 아울러 대립 유전형질 변이체, 스플라이스 변이체 및 융합 펩티드 및 폴리펩티드를 비롯한 관련 폴리펩티드를 지칭한다. 성숙 미오스타틴 COOH-말단 단백질은 인간, 마우스, 닭, 돼지, 칠면조 및 래트를 비롯한 다수의 종에서 100% 서열 동일성을 갖는 것으로 보고되어 왔다(Lee 등., *PNAS* **98**, 9306 (2001)). 미오스타틴은 어떻게 제조되는가에 따라서 표적 서열, 또는 메티오닌 및 리신 잔기 및(또는) 태그 또는 융합 단백질 서열과 같은 추가적인 말단 잔기를 포함하거나 또는 포함하지 않을 수 있다.

[0084] 본원에서 사용된 "미오스타틴에 결합할 수 있는" 또는 "미오스타틴에 대한 결합 친화력을 갖는"이란 용어는 하기 실시예에서 기술된 파지 ELISA 분석, 비아코어(BIAcore, 등록상표) 또는 킨엑스 A(KinEx A)TM 분석에 의해 입증된 것과 같이 미오스타틴에 결합하는 결합제 또는 펩티드를 지칭한다.

[0085] 본원에서 사용된 "미오스타틴의 활성을 조절할 수 있는"이란 용어는 미오스타틴의 하나 이상의 생물학적 활성에

대한 아고니스트 또는 길항제로서의 물질의 작용을 지칭한다. 본원에서 사용된 "아고니스트" 또는 "모방체" 활성은 예를 들어, 국제 특허 출원 WO 제01/83525호(2001. 5. 2. 출원)(본원에 참고로 인용됨)에 기술된 것과 같은 목적 단백질과 상호 작용하는 단백질에 상응하는 생물학적 활성을 갖는 물질을 지칭한다.

[0086] 본원에서 사용된 "미오스타틴의 활성을 저해하는" 또는 "길항제 활성을 갖는"이란 용어는, 예를 들어 pMARE C2C12 세포-기재 미오스타틴 활성 분석과 같은 시험관내 분석 또는 하기에서 기술된 것과 같은 생체내 동물 시험으로 입증된 것과 같은 미오스타틴의 활성 또는 시그널 전달을 감소시키거나 또는 차단하는 펩티드 또는 결합제의 능력을 지칭한다.

[0087] **미오스타틴 결합제의 구조**

[0088] 한 실시태양에서, 본 발명의 결합제는 중합체 또는 Fc 도메인과 같은 하나 이상의 비히클에 공유결합에 의해 부착된 하나 이상의 미오스타틴 결합 펩티드를 포함한다. 하나 이상의 비히클에 대한 미오스타틴-결합 펩티드의 부착은 물질의 생물학적 활성을 증가시키고(또는) 생체 내에서의 분해를 감소시키고, 생체 내에서의 반감기를 증가시키고, 생체 내에서의 독성 또는 면역원성을 감소시켜서 치료제로서의 결합제의 효능을 증가시키도록 의도된다. 본 발명의 결합제는 추가적으로 펩티드와 비히클을 연결하는 링커 서열을 포함할 수 있다. 펩티드 또는 펩티드들은 펩티드의 N-말단, C-말단 또는 아미노산 측쇄에서 비히클에 직접적으로 또는 링커 서열을 통해 간접적으로 부착된다. 한 실시태양에서, 본 발명의 결합제는 하기 구조를 갖는다:

[0089] $(X^1)_a-F^1-(X^2)_b$, 또는 이들의 다량체;

[0090] [여기서, F^1 은 비히클이고; X^1 및 X^2 는 각각 독립적으로

$-(L^1)_c-P^1$;
 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$;
 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$;
 및 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$

[0091]로부터 선택되고;

[0092] 여기서, P^1 , P^2 , P^3 , 및 P^4 는 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드이고;

[0093] L^1 , L^2 , L^3 , 및 L^4 는 각각 링커이고; a, b, c, d, e, 및 f는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 단 a 및 b 중 최소한 하나는 1임].

[0094] 시스템인 잔기를 함유하는 임의의 펩티드가 다른 Cys-함유 펩티드와 가교결합될 수 있고, 이들 중 하나 또는 모두가 비히클에 연결될 수 있다. 하나 이상의 Cys 잔기를 갖는 임의의 펩티드가 또한 펩티드내 이황화 결합을 형성할 수 있다.

[0095] 한 실시태양에서, 비히클은 하기에서 정의된 Fc 도메인이다. 이 실시태양은 "펩티바디"로 지칭된다. 본원에서 사용된 "펩티바디"란 용어는 하나 이상의 펩티드에 부착된 항체 Fc 도메인을 포함하는 분자를 지칭한다. 펩티바디의 생성은 PCT 출원 WO 제00/24782호(2000. 5. 4. 공개)에 일반적으로 기술되어 있다(그 전체 내용이 참고로 인용되었음). 대표적인 펩티바디는 하기 실시예에서 기술된 것과 같이 각각, 한개의 카피 및 두개의 카피의 펩티드(일렬로 부착됨)를 갖는 1x 및 2x 구성으로 제공된다.

[0096] **펩티드**

[0097] 본원에서 사용된 "펩티드"란 용어는 펩티드 결합에 의해 연결된 약 5 내지 약 90개의 아미노산의 분자를 지칭한다. 본 발명의 펩티드는 바람직하게는 그 길이가 약 5 내지 약 50개의 아미노산이고, 보다 바람직하게는 그 길이가 약 10 내지 30개의 아미노산이고, 가장 바람직하게는 그 길이가 약 10 내지 25개의 아미노산으로, 미오스타틴 단백질에 결합할 수 있다.

[0098] 본 발명의 펩티드는 천연형 단백질 서열의 일부를 포함할 수 있고, 천연형 단백질로부터 유래하는 랜덤 서열일 수 있거나, 또는 전적으로 랜덤화된 서열일 수 있다. 본 발명의 펩티드는 화학적 합성, 단백질의 분해 또는 재조합 기술을 비롯하여 당업계에서 공지된 임의의 방법으로 생성될 수 있다. 파지 디스플레이 및 RNA-펩티드 스크리닝 및 기타 친화력 스크리닝 기술이 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드를 생성하는데 있어서 특히 유용하다.

- [0099] 파지 디스플레이 기술은 예를 들어, 문헌[Scott 등, *Science* 249: 386 (1990); Devlin 등, *Science* 249: 404 (1990)]; 미국 특허 제5,223,409호 (1993. 6. 29. 등록); 미국 특허 제5,733,731호(1998. 3. 31. 등록); 미국 특허 제5,498,530호(1996. 3. 12. 등록); 미국 특허 제5,432,018(1995. 7. 11. 등록); 미국 특허 제5,338,665호(1994. 8. 16. 등록); 미국 특허 제5,922,545호(1999. 7. 13. 등록); WO 제96/40987호(1996. 12. 19. 공개); 및 WO 제98/15833호(1998. 4. 16. 공개)에 기술되어 있다(이들 각각은 본원에 참고로 인용되었음). 파지 라이브러리를 이용하여 랜덤 펩티드 서열이 필라멘트형 파지의 외피 단백질과 융합하여 디스플레이된다. 일반적으로, 디스플레이된 펩티드는 표적 분자에 대해서 특이적으로 또는 비특이적으로 친화력-융출 분리된 것이다. 보유된 파지는 연속적인 친화력 정제 및 재증식의 시행으로 농후화될 수 있다. 최적 결합 펩티드가 추가 분석, 예를 들어, 하기에서 기술된 파지 ELISA에 의해 선택되고, 이어서 서열 분석된다. 임의로, 최적의 결합제의 서열을 최적화하기 위해 돌연변이체 라이브러리가 생성되고 스크리닝된다(Lowman, *Ann Rev Biophys Biomol Struct* 26:401-24 (1997)).
- [0100] 미오스타틴 결합 펩티드를 생성하는 다른 방법은 당업계에 공지된 추가적인 친화력 선택 기술을 포함한다. 펩티드 라이브러리는 lac 억제제의 카르복시 말단과 융합되어서, 대장균(*E. coli*) 내에서 발현될 수 있다. 다른 대장균 기재 방법은 펩티도글리칸-결합된 지단백(PAL)과 융합하여 세포의 외막 상에서 디스플레이되도록 한다. 이후, 이들 및 관련 방법은 총괄하여 "대장균 디스플레이"로 지칭된다. 다른 방법에서, 랜덤 RNA의 번역은 리보솜 방출 전에 정지되어서, 그 결합된 RNA가 여전히 부착된 상태의 폴리펩티드의 라이브러리를 생성한다. 이후, 이들 및 관련 방법은 총괄하여 "라이보솜 디스플레이"로 지칭된다. 기타 방법은 RNA로 펩티드를 화학 결합시키는 것을 사용한다. 예를 들어, 문헌[Roberts and Szostak, *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 12297-303 (1997)] 참조. 이후, 이들 및 관련 방법은 총괄적으로 "RNA-펩티드 스크리닝"으로 지칭된다. 또한, 효모 두-하이브리드(two-hybrid) 스크리닝 방법이 미오스타틴에 결합하는 본 발명의 펩티드를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 아울러, 펩티드가 안정한 비생물학적 물질, 예를 들어, 폴리에틸렌칩 또는 용매 투과성 수지에 고정화된, 화학적으로 유도된 펩티드 라이브러리가 개발되어 왔다. 다른 화학적으로 유도된 펩티드 라이브러리는 유리 슬라이드 상에 고정된 펩티드를 스캔하기 위해서 사진평판술을 사용한다. 이후, 이들 및 관련 방법은 총괄적으로 "화학적-펩티드 스크리닝"으로 지칭된다. 화학적-펩티드 스크리닝은 D-아미노산 및 기타 유사체와 아울러 비펩티드 요소의 사용을 허용하기 때문에 유리할 수 있다. 생물학적 및 화학적 방법 모두는 문헌[Wells and Lowman, *Curr Opin Biotechnol* 3: 355-62 (1992)]에서 고찰되고 있다.
- [0101] 아울러, 미오스타틴에 결합할 수 있는 선택된 펩티드는 "합리적인 디자인"의 사용을 통해 추가적으로 개선될 수 있다. 이 접근법에서, 펩티드 서열에 단계적인 변화가 가해지고, 펩티드의 결합 친화력 또는 특이성 또는 펩티드의 일부 다른 성질에 대한 치환의 효과가 적절한 분석으로 관찰된다. 이 기술의 한가지 예는 "알라닌 워크(alanine walk)" 또는 "알라닌 스캔(alanine scan)"으로 지칭되는, 한 번에 하나의 잔기를 알라닌으로 치환하는 것이다. 두개의 잔기가 치환된 경우, "더블 알라닌 워크"로 지칭된다. 아미노산 치환을 함유하는 생성된 펩티드를 향상된 활성 또는 일부 추가적인 장점에 대해서 시험한다.
- [0102] 아울러, 거대 단백질의 상호작용을 모방하는 펩티드를 제시하기 위해 단백질-단백질 상호작용 구조의 분석을 사용할 수 있다. 이같은 분석에서, 단백질의 결정구조는 펩티드가 디자인되는 단백질의 중요 잔기의 정제 및 상대적 방향을 제시할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Takasaki 등, *Nature Biotech* 15:1266 (1977)] 참조. 또한, 이들 방법은 표적 단백질과 파지 디스플레이에 의해 선택된 펩티드의 상호작용 또는 기타 친화력 선택 과정을 연구하기 위해 사용되어서, 단백질의 활성을 저해하기 위해서 펩티드의 결합 친화력 및 능력을 증가시키기 위한 펩티드의 추가적인 개질을 제시하는데 사용될 수 있다.
- [0103] 한 실시태양에서, 본 발명의 펩티드는 관련된 펩티드의 계열로서 생성된다. 대표적인 펩티드는 서열번호:1 내지 132로 나타난다. 이들 대표적인 펩티드들은 파지 디스플레이 기술로 생성된 최적의 결합제가 본원에서 기술된 것과 같은 파지 디스플레이 기술과 같은 친화력 선택 기술에 의해 후보 펩티드를 생성하기 위해 파지 ELISA로 추가 분석되는 선택 과정을 통해 유도되었다. 그러나, 본 발명의 펩티드는 하기에서 기술된 것과 같은 화학적 합성을 비롯한 임의의 다수의 공지된 방법으로 생성될 수 있다.
- [0104] 본 발명의 펩티드는 "친화력-성숙" 과정을 통해 추가적으로 개선될 수 있다. 이 과정은 파지 디스플레이 또는 기타 선택 기술을 사용하여 본 발명의 펩티드 및 펩티바디의 친화력 또는 활성을 증가시키기 위한 것이다. 콘센서스 서열에 기초하여, 예를 들어, "코아" 아미노산(콘센세스 서열로부터 결정됨)이 일정하게 유지되거나 또는 출현 빈도 면에서 편중된, 유도된 2차 파지 디스플레이 라이브러리가 생성될 수 있다. 별법으로, 편중된, 유도된 파지 디스플레이 라이브러리를 생성하기 위해서 개별 펩티드 서열이 사용될 수 있다. 보다 엄격한 조건 하에서의 이같은 라이브러리의 패닝(panning)은 미오스타틴에 대해 증가된 결합, 미오스타틴에 대한 선택적 결

합 또는 일부 추가적인 바람직한 성질을 갖는 펩티드를 생성할 수 있다. 그러나, 친화력-성숙된 서열을 갖는 펩티드는 이후 화학적 합성 또는 재조합을 비롯한 임의의 다수의 공지된 방법으로 제조될 수 있다. 이들 펩티드는 세포 기계 분석 및 생체 분석에서 보다 큰 저해 활성을 나타내는 다양한 구성의 펩티바디와 같은 결합제를 생성하기 위해 사용된다.

[0105] 실시예 6은 친화력-성숙된 펩티드를 제조하기 위해서 상기에서 기술된 "제1 라운드" 펩티드의 친화력 성숙을 기술하고 있다. 대표적인 친화력-성숙된 펩티바디는 표 4a 및 4b 및 5a 내지 5c에 제시되어 있다. 이들 펩티드로부터 제조된 생성된 1x 및 2x 펩티바디는 결합 친화력, 미오스타틴 활성을 중성화할 수 있는 능력, 다른 TNF β 계열 구성원과는 대립되는 미오스타틴에 대한 특이성, 및 하기에서 기술된 것과 같은 추가적인 시험관내 및 생체내 활성에 대해 추가적으로 특성분석되었다. 친화력-성숙된 펩티드 및 펩티바디는 동일한 계열의 제1 라운드 펩티드와 이들을 구별하기 위해서 그 계열 이름 앞에 접두사 "m"을 붙여 지칭한다.

[0106] 본 발명에 따른 추가적인 친화력 성숙을 위해 선택된 대표적인 제1 라운드 펩티드는 하기 펩티드를 포함한다:

TN8-19 QGHCTRWPMCPY(서열번호: 33), 및 선행 펩티드
 선행-2 MEMLDLSELFELKDMVPISKA(서열번호: 104),
 선행-15 HHGWNYLRKGSAPQWFEAWV(서열번호: 117),
 선행-17 RATLLKDFWQLVEGYGDN(서열번호: 119),
 선행-20 YREMSMLEGLLDVLERLQHY(서열번호: 122),
 선행-21 HNSSQMLLSEIMLVGSMQ(서열번호: 123),
 선행-24 EFFHWLHNHRSEVNHWLDNM(서열번호: 126).

[0107]

이들 각각의 친화력-성숙된 계열이 하기 표 4a 및 4b 및 5a 내지 5c에 제시된다.

[0108]

[0109] 또한, 본 발명의 펩티드는 미오스타틴에 결합할 수 있는 선택된 펩티드의 변이체 및 유도체를 포괄한다. 본원에서 사용된 "변이체"란 용어는 본래의 아미노산 서열에 하나 이상의 아미노산이 삽입, 결실 또는 치환되었으며, 여전히 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드를 지칭한다. 삽입 및 치환 변이체는 천연 아미노산과 아울러 비천연 아미노산을 함유할 수 있다. 본원에서 사용된 "변이체"란 용어는 미오스타틴에 결합할 수 있는 능력을 여전히 보유하는 펩티드의 단편을 포함한다. 본원에서 사용된, "유도체"란 용어는 삽입, 결실 및 치환 변이체와는 별개의 일정한 방식으로 화학적으로 개질된 펩티드를 지칭한다. 본 발명의 펩티드 및 펩티바디의 변이체 및 유도체는 하기에서 보다 자세히 기술된다.

[0110]

비히클

[0111] 본원에서 사용된 "비히클"이란 용어는 본 발명의 하나 이상의 펩티드에 부착될 수 있는 분자를 지칭한다. 바람직하게는, 비히클은 본 발명의 결합제 상에 하나 이상의 바람직한 성질을 부여한다. 펩티드 단독으로는 생체 내에서 신장 여과, 세망내피계 중의 세포내 제거 기작 또는 단백질분해에 의해 제거되기 쉽다. 비히클로의 부착은 결합제의 분해를 감소시키고(시키거나) 결합물질의 반감기를 증가시키고, 독성을 감소시키고, 면역원성을 감소시키고(시키거나) 생물학적 활성을 증가시켜서, 결합제의 치료적 유용성을 향상시킨다.

[0112] 예시적인 비히클은 회수 수용체(salvage receptro)에 결합하는 Fc 도메인; 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리리신, 텍스트란과 같은 선행 중합체; 분지쇄 중합체(예를 들어, 미국 특허 제4,289,872호(Denkenwalter 등., 1981. 9. 15. 등록); U. S. 특허 제5,229,490호(Tam, 1993. 7. 20. 등록); WO 제93/21259호(Frechet 등., 1993 10. 28. 공개); 지질; 콜레스테롤기(예를 들어, 스테로이드); 탄수화물 또는 올리고다당류; 또는 임의의 천연 또는 합성 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 포함한다.

[0113] 한 실시태양에서, 본 발명의 미오스타틴 결합제는 펩티드(들)의 N-말단, C-말단 또는 한 아미노산 잔기의 측쇄를 통해 하나 이상의 비히클(F^1 , F^2)에 부착된 하나 이상의 펩티드를 갖는다. 또한, 다중 비히클이 사용될 수 있다; 예를 들어, 각각의 말단에서 Fc 도메인 또는 한 말단에서 Fc 도메인 및 다른 말단 또는 측쇄에서 PEG기.

[0114] Fc 도메인이 바람직한 한 비히클이다. 본원에서 사용된 "Fc 도메인"이란 용어는 천연 Fc 및 Fc 변이체 분자 및 하기에서 정의된 서열을 포함한다. 본원에서 사용된 "천연 Fc"란 용어는 항체의 비항원 결합 단편 또는 재조합 DNA 기술 또는 완전한 항체의 효소적 또는 화학적 분해에 의해 제조된 단편의 아미노산 서열을 지칭한다. 바람

직한 Fc는 전체 인간 Fc이고, IgG1 및 IgG2와 같은 임의의 면역글로불린으로부터 유래할 수 있다. 그러나, 부분적으로 인간의 것이거나, 인간이 아닌 종으로부터 유래한 Fc 분자도 여기에 포함된다. 천연 Fc 분자는 공유 결합(즉, 이황화 결합) 및 비공유 결합에 의해 이량체 또는 다량체 형태로 연결될 수 있는 단량체 폴리펩티드들로 이루어진다. 천연 Fc 분자의 단량체 서브유닛 사이의 분자간 이황화 결합의 수는 클래스(예를 들어, IgG, IgA, IgE) 또는 서브클래스(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgA1, IgA2)에 따라서 1 내지 4개 범위이다. 천연 Fc의 한 예는 IgG의 과파인 분해로부터 생성되는 이황화 결합된 이량체이다(Ellison 등, (1982), *Nucl Acids Res* 10: 4071-9 참조). 본원에서 사용된 "천연 Fc"라는 용어는 단량체, 이량체 및 다량체 형태를 지칭하기 위해 사용된다.

[0115] 본원에서 사용된 "Fc 변이체"는 회수 수용체로의 결합이, 예를 들어, WO 제97/34631호 및 WO 제96/32478호(이들은 본원에 참고로 인용되었음)에 기술된 것과 같이 유지된다면, 천연 Fc 서열이 개질된 형태를 지칭한다. Fc 변이체는 예를 들어, 잔기를 치환 또는 결실시키거나, 잔기를 삽입하거나 또는 부위를 함유하는 부분을 절단시켜서 제작될 수 있다. 또한, 삽입되거나 또는 치환된 잔기는 펩티도미메틱 또는 D-아미노산과 같은 변형된 아미노산일 수 있다. Fc 변이체는 많은 이유로 바람직하고, 이 중 몇몇은 하기에서 기술된다. 대표적인 Fc 변이체는 하기 분자 및 서열을 포함한다:

[0116] 1. 이황화 결합 형성에 관여하는 부위가 제거된다. 이같은 제거는 본 발명의 분자를 생성하기 위해 사용되는 숙주 세포 중에 존재하는 다른 시스테인-함유 단백질과의 반응을 회피할 수 있다. 이 목적을 위해서, N-말단의 시스테인-함유 세그먼트는 절단될 수 있거나, 또는 시스테인 잔기가 결실되거나 또는 다른 아미노산(예를 들어, 알라닌, 세틸)으로 치환될 수 있다. 시스테인 잔기가 제거되는 경우라도, Fc 도메인의 단일쇄는 여전히 비공유 결합에 의해 합체될 수 있는 이량체 Fc 도메인을 형성할 수 있다.

[0117] 2. 천연 Fc는 선택된 숙주 세포와 보다 적합하도록 개질될 수 있다. 예를 들어, 대장균 내의 프롤린 이미노펩티다제와 같은 분해 효소에 의해 인식될 수 있는 전형적인 천연 Fc의 N-말단 근처의 PA 서열을 제거할 수 있다. 특히, 분자가 대장균과 같은 박테리아 세포 중에서 재조합적으로 발현될 때, N-말단 메티오닐 잔기를 첨가할 수도 있다.

[0118] 3. 천연 Fc의 N-말단 부분은 선택된 숙주 세포에서 발현될 때 N-말단 불균일성을 방지하기 위해 제거된다. 이 목적을 위해서, N-말단에서 처음 20개 아미노산 잔기 중 임의의 아미노산, 특히, 1, 2, 3, 4 및 5번 위치의 아미노산을 결실시킬 수 있다.

[0119] 4. 하나 이상의 글리코실화 부위가 제거된다. 일반적으로 글리코실화되는 잔기(예를 들어, 아스파라긴)이 세포 용해 반응을 부여한다. 이같은 잔기는 결실되거나 또는 글리코실화되지 않은 잔기(예를 들어, 알라닌)로 치환될 수 있다.

[0120] 5. 보체와의 상호작용에 관여하는 부위, 예를 들어, C1q 결합 부위가 제거된다. 예를 들어, 인간 IgG1의 EKK 서열을 결실시키거나 또는 치환시킬 수 있다. 보체의 집합은 본 발명의 분자에게 유리하지 않을 수 있고, Fc 변이체의 경우 회피될 것이다.

[0121] 6. 회수 수용체 이외의 Fc 수용체로의 결합에 영향을 주는 부위가 제거된다. 천연 Fc는 본 발명의 융합 분자의 경우 요구되지 않은 백혈구와의 상호작용을 위한 부위를 가질 수 있고, 이는 제거될 수 있다.

[0122] 7. ADCC 부위는 제거된다. ADCC 부위는 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, IgG1 중의 ADCC 부위로 문헌 [*Molec Immunol* 29 (5):633-9 (1992)] 참조. 이들 부위 또한 본 발명의 융합 분자의 경우 요구되지 않으며, 제거될 수 있다.

[0123] 8. 천연 Fc가 비인간 항체로부터 유래하는 경우, 천연 Fc는 인간화될 수 있다. 일반적으로, 천연 Fc를 인간화하기 위해서 비인간 천연 Fc 중의 선택된 잔기를 인간 천연 Fc 중에 일반적으로 존재하는 잔기로 치환한다. 항체 인간화 기술은 당업계에 공지되어 있다.

[0124] "Fc 도메인"이란 용어는 전체 항체로부터 분해되었거나 또는 다른 방법으로 생성된, 단량체 또는 다량체 형태의 분자를 함유한다. 본원에서 사용된, Fc 도메인 또는 Fc 도메인을 포함하는 분자에 적용되는 "다량체"란 용어는 공유 결합, 비공유결합 또는 공유 결합 및 비공유 결합 모두에 의한 상호작용으로 결합된 두개 이상의 폴리펩티드 사슬을 갖는 분자를 지칭한다. IgG 분자는 일반적으로 이량체를 형성하고, IgM은 오량체를 형성하고, IgD는 이량체를 형성하고, IgA는 단량체, 이량체, 삼량체 또는 사량체를 형성한다. 다량체는 서열 및 Fc의 천연 Ig 공급원의 생성된 활성을 이용하거나, 또는 이같은 천연 Fc를 유도체화하여 형성될 수 있다. Fc 도메인 또는 Fc 도메인을 포함하는 분자에 적용되는 "이량체"란 용어는 공유 결합 또는 비공유 결합으로 연결된 두개의 폴리펩

티드를 갖는 분자를 지칭한다.

[0125] 아울러, 본 발명에 따른 별도의 비히클은 회수 수용체에 결합할 수 있는 비-Fc 도메인 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 항체, 항체 단편 또는 소분자(예를 들어, 펩티도미메틱(peptidomimetic) 화합물)이다. 예를 들어, 미국 특허 제5,739,277호(1998. 4. 14. 등록, Presta 등.)에 기술된 것과 같은 폴리펩티드를 비히클로 사용할 수 있다. 또한, 펩티드는 FcRn 회수 수용체로의 결합을 위한 파지 디스플레이로 선택될 수 있다. 또한, 이같은 회수 수용체-결합 화합물은 "비히클"의 의미 내에 포함되고, 본 발명의 범위 내에 들어간다. 이같은 비히클은 증가된 반감기(예를 들어, 단백질 분해효소에 의해 인식되는 서열을 회피하여) 및 감소된 면역원성(예를 들어, 항체 인간화에서 발견된 것과 같은 비면역원성 서열을 선호하여)에 대해 선택되어야 한다.

[0126] 아울러, 중합체 비히클은 본 발명의 결합제를 제작하기 위해 사용될 수 있다. 비히클로서 유용한 화학 잔기를 부착시키기 위한 다양한 방법이 현재 사용가능하고, 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO 제96/11953호(발명의 명칭 "N-말단에서 화학적으로 개질된 단백질 조성물 및 방법"(본원에 그 전체가 참고로 인용됨)을 참조할 수 있다. 이 국제 공개문헌은 다른 것들 중에서도 수용성 중합체의 단백질 N-말단으로의 선택적 부착을 개시하고 있다.

[0127] 바람직한 중합체 비히클은 폴리에틸렌 글리콜(PEG)이다. PEG기는 임의의 사용하기 좋은 분자량일 수 있고, 선형 또는 분지쇄일 수 있다. PEG의 평균 분자량은 바람직하게는 약 2 kDa 내지 약 100 kDa, 보다 바람직하게는 약 5 kDa 내지 약 50 kDa, 가장 바람직하게는 약 5 kDa 내지 약 10 kDa이다. PEG기는 일반적으로 PEG 잔기 상의 반응성기(예를 들어, 알데히드, 아미노, 티올 또는 에스테르기)가 본 발명의 화합물의 반응성기(예를 들어, 알데히드, 아미노 또는 에스테르기)에 아실화 또는 환원적 알킬화되어서 본 발명의 화합물에 부착된다. 합성 펩티드의 PEG화를 위해 유용한 전략은 용액 중의 콘주게이트 결합을 형성하여, 각각이 상호적으로 서로에 대해 반응성인 특별한 관능기를 갖는 펩티드와 PEG 잔기를 결합시키는 것으로 이루어진다. 펩티드는 당업계에 공지된 통상의 고상 합성법으로 용이하게 제조될 수 있다. 펩티드는 특정 부위의 적절한 관능기를 사용하여 "사전 활성화"될 수 있다. 전구체는 PEG 잔기와 반응하기 전에 정제되고 완전히 특성분석된다. 펩티드와 PEG의 결합은 일반적으로 수상에서 일어나고, 역상 분석 HPLC로 용이하게 모니터링될 수 있다. PEG화된 펩티드는 분취용 HPLC로 용이하게 정제될 수 있고, 분석 HPLC, 아미노산 분석 및 레이저 탈착 질량 분석기로 특성분석될 수 있다.

[0128] 다당류 중합체는 단백질 개질에 사용될 수 있는 다른 유형의 수용성 중합체이다. 텍스트란은 주로 α1-6 결합으로 결합된 글루코스의 개별 서브유닛으로 이루어진 다당류 중합체이다. 텍스트란 자체는 다양한 분자량 범위를 얻을 수 있고, 약 1 kDa 내지 약 70 kDa의 분자량 중량으로 용이하게 얻을 수 있다. 텍스트란은 본 발명에서 그 자체로 비히클로 또는 다른 비히클(예를 들어, Fc)과 함께 사용하기에 적합한 수용성 중합체이다. 예를 들어, WO 제96/11953호 및 WO 제96/05309호 참조. 치료적 또는 진단적 면역글로불린과 콘주게이트된 텍스트란의 용도는 예를 들어, 유럽 특허 공개 제0 315 456호(참고로 인용되었음)에 보고되어 있다. 텍스트란이 본 발명에 따른 비히클로 사용될 경우, 약 1 kDa 내지 약 20 kDa의 텍스트란이 바람직하다.

[0129] **링커**

[0130] 본 발명의 결합제는 임의로 추가적으로 "링커"기를 포함할 수 있다. 링커는 주로 펩티드와 비히클 사이, 또는 본 발명의 결합제의 두개의 펩티드 사이에서 스페이서로 기능한다. 한 실시태양에서, 링커는 펩티드 결합으로 결합된 아미노산, 바람직하게는 펩티드 결합으로 결합된 1 내지 20개의 아미노산(여기서, 아미노산은 20개의 천연 아미노산으로부터 선택됨)으로 이루어져 있다. 당업자들이 이해하는 바와 같이, 하나 이상의 이들 아미노산이 글리코실화될 수 있다. 한 실시태양에서, 1 내지 20개의 아미노산이 글리신, 알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 글루타민 및 리신으로부터 선택된다. 바람직하게는, 링커는 입체적 장애가 없는 글리신 및 알라닌과 같은 아미노산으로 주로 이루어진다. 따라서, 대표적인 링커는 폴리글리신(특히, (Gly)₅, (Gly)₈, poly(Gly-Ala)) 및 폴리알라닌이다. 본원에서 사용된 것과 같이, 명칭 "g"는 글리신 호모펩티드 링커를 지칭한다. 표 2a 내지 2i에서 나타난 것과 같이, "gn"은 N 말단에서 5x gly 링커를 지칭하고, "gc"는 C 말단에서 5x gly 링커를 지칭한다. 또한, Gly와 Ala의 조합이 바람직하다. 본 발명의 결합제를 제작하기 위해서 유용한 한 대표적인 링커 서열은 다음과 같다: gsgsatggsgstassgsgsatg (서열번호: 305). 이 링커 서열은 "k" 또는 1k 서열로 지칭된다. 표 2a 내지 2i에 나타난 명칭 "kc"는 C-말단의 k 링커를 지칭하고, 명칭 "kn"은 N-말단의 k 링커를 지칭한다.

[0131] 또한, 본 발명의 링커는 비펩티드 링커일 수 있다. 예를 들어, -NH-(CH₂)_s-C(=O)- (여기서, s=2-20)과 같은 알킬 링커가 사용될 수 있다. 이들 알킬 링커는 저급 알킬(예를 들어, C₁-C₆), 저급 아실, 할로젠(예를 들어, Cl,

Br), CN, NH₂, 페닐 등과 같은 입체적 장애가 없는 임의의 기로 추가적으로 치환될 수 있다. 대표적인 비펩티드 링커는 PEG 링커이고, 분자량이 100 내지 5000 kDa, 바람직하게는 100 내지 500 kDa이다. 펩티드 링커는 상기 방법과 같은 방식으로 유도체를 형성하기 위해 변형될 수 있다.

[0132] **대표적인 결합제**

[0133] 본 발명의 결합제는 미오스타틴에 결합할 수 있는 하나 이상의 펩티드를 포함한다. 한 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 그 길이가 약 5 내지 약 50개 아미노산이고, 다른 실시태양에서는, 그 길이가 약 10 내지 30개의 아미노산이고, 다른 실시태양에서는, 그 길이가 약 10 내지 25개 아미노산이다. 한 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 WMCPP (서열번호: 633)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 C_{a1}a₂W_{a3}WMCPP (서열번호: 352)의 아미노산 서열을 포함한다(여기서, a₁, a₂ 및 a₃는 중성 소수성, 중성 극성, 또는 염기성 아미노산으로부터 선택됨). 다른 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 C_{b1}b₂W_{b3}WMCPP (서열번호: 353)의 아미노산 서열 및 그 제약학상 허용되는 염을 포함한다(여기서, b₁은 아미노산 T, I 및 R 중 임의의 하나로 선택되고; b₂는 R, S 및 Q 중 임의의 하나로 선택되며; b₃는 P, R 및 Q 중 임의의 하나로 선택되고; 여기서, 펩티드의 길이는 10 내지 50개의 아미노산임).

[0134] 다른 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 하기 식의 서열 및 생리학상 허용되는 그의 염을 포함한다:

[0135] c₁c₂c₃c₄c₅c₆C₇c₈W_{c9}WMCPPc₁₀c₁₁c₁₂c₁₃ (서열번호: 354):

[0136] [여기서, c₁은 비존재하거나 또는 임의의 아미노산이고;

[0137] c₂는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이며;

[0138] c₃는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이고;

[0139] c₄는 비존재하거나 또는 임의의 아미노산이며;

[0140] c₅는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성, 또는 산성 아미노산이고;

[0141] c₆는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이며;

[0142] c₇은 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이고;

[0143] c₈은 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이며;

[0144] c₉은 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이고;

[0145] c₁₀ 내지 c₁₃은 임의의 아미노산이며;

[0146] 여기서, 펩티드의 길이는 20 내지 50개의 아미노산임].

[0147] 관련 실시태양에서, 미오스타틴 결합 펩티드는 하기 식의 서열 및 생리학상 허용되는 그의 염을 포함한다:

[0148] d₁d₂d₃d₄d₅d₆C_{d7}d₈W_{d9}WMCPP d₁₀d₁₁d₁₂d₁₃ (서열번호: 355)

[0149] [여기서, d₁은 비존재하거나 또는 임의의 아미노산이고;

[0150] d₂는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이며;

[0151] d₃는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이고;

[0152] d₄는 비존재하거나 또는 임의의 아미노산이며;

[0153] d₅는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 산성 아미노산이고;

[0154] d₆는 비존재하거나 또는 중성 소수성, 중성 극성 또는 염기성 아미노산이며;

- [0155] d_7 은 아미노산 T, I, 및 R 중 임의의 하나로 선택되고;
- [0156] d_8 은 R, S 및 Q 중 임의의 하나로 선택되며;
- [0157] d_9 은 P, R 및 Q 중 임의의 하나로 선택되고;
- [0158] d_{10} 내지 d_{13} 은 임의의 아미노산으로부터 선택되며,
- [0159] 여기서, 펩티드의 길이는 20 내지 50개의 아미노산임].
- [0160] 결합체의 추가의 실시형태는 하나 이상의 하기 펩티드를 포함한다:
- [0161] (1) $WYe_1e_2Ye_3G$ (서열번호: 356)의 서열을 포함하고, 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드 및 그의 생리학상 허용되는 염;
- [0162] [여기서, e_1 은 P, S 또는 Y이고,
- [0163] e_2 는 C 또는 Q이며,
- [0164] e_3 는 G 또는 H이고,
- [0165] 여기서, 펩티드의 길이는 7 내지 50개의 아미노산임]
- [0166] (2) $f_1EMLf_2SLf_3f_4LL$ (서열번호: 455)의 서열을 포함하고, 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드 및 그의 생리학상 허용되는 염;
- [0167] [여기서, f_1 은 M 또는 I이고,
- [0168] f_2 는 임의의 아미노산이며,
- [0169] f_3 는 L 또는 F이고,
- [0170] f_4 는 E, Q 또는 D이며,
- [0171] 여기서, 펩티드의 길이는 7 내지 50개의 아미노산임]
- [0172] (3) $Lg_1g_2LLg_3g_4L$ (서열번호: 456)의 서열을 포함하고, 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드 및 그의 생리학상 허용되는 염;
- [0173] [여기서, g_1 은 Q, D 또는 E이고,
- [0174] g_2 는 S, Q, D 또는 E이며,
- [0175] g_3 는 임의의 아미노산이고,
- [0176] g_4 는 L, W, F, 또는 Y이며,
- [0177] 여기서 펩티드의 길이는 8 내지 50개의 아미노산임]
- [0178] (4) $h_1h_2h_3h_4h_5h_6h_7h_8h_9$ (서열번호: 457)의 서열을 포함하고, 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드 및 그의 생리학상 허용되는 염;
- [0179] [여기서, h_1 은 R 또는 D이고,
- [0180] h_2 는 임의의 아미노산이며,
- [0181] h_3 는 A, T, S 또는 Q이고,
- [0182] h_4 는 L 또는 M이며,

- [0183] h_5 는 L 또는 S이고,
- [0184] h_6 는 임의의 아미노산이며,
- [0185] h_7 은 F 또는 E이고,
- [0186] h_8 은 W, F 또는 C이며,
- [0187] h_9 은 L, F, M 또는 K이고,
- [0188] 여기서, 펩티드의 길이는 9 내지 50개의 아미노산임].
- [0189] 한 실시태양에서, 본 발명의 결합체는 중합체 또는 Fc 도메인과 같은 하나 이상의 비히클을 추가로 포함하고, 하나 이상의 링커 서열을 추가적으로 포함할 수 있다. 이 실시태양에서, 본 발명의 결합체는 하나 이상의 미오스타틴-결합체 펩티드가 하나 이상의 비히클에 부착되도록 제조된다. 펩티드 또는 펩티드들은 직접적으로 또는 링커 서열을 통해 간접적으로, 펩티드의 N-말단, C-말단 또는 아미노산 측쇄에 부착된다. 이 실시태양에서, 본 발명의 결합체는 하기 일반식을 가진다:
- [0190] $(X^1)_a-F^1-(X^2)_b$, 또는 이들의 다량체;
- [0191] [여기서, F^1 은 비히클이고; X^1 및 X^2 는 각각 독립적으로
- $(L^1)_c-P^1$;
 - $(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$;
 - $(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$;
 및 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$
- [0192]로부터 선택되고;
- [0193] 여기서, P^1 , P^2 , P^3 , 및 P^4 는 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드이고;
- [0194] L^1 , L^2 , L^3 , 및 L^4 은 각각 링커이고; a, b, c, d, e, 및 f는 각각 독립적으로 0 또는 1이고, 단 a 및 b 중 최소한 하나는 1임].
- [0195] 이 일반식의 구조를 갖는 결합체의 한 실시태양에서, 펩티드 P^1 , P^2 , P^3 및 P^4 는 상기에서 주어진 서열을 포함하는 하나 이상의 임의의 펩티드로부터 독립적으로 선택될 수 있다. 펩티드 P^1 , P^2 , P^3 및 P^4 는 독립적으로 임의의 하기 서열을 포함하는 하나 이상의 펩티드로부터 선택된다: 서열번호: 633, 서열번호: 352, 서열번호: 353, 서열번호: 354, 서열번호: 355, 서열번호: 356, 서열번호: 455, 서열번호: 456 또는 서열번호: 457.
- [0196] 추가 실시태양에서, 상기 일반식을 갖는 결합체의 비히클은 Fc 도메인이다. 따라서, 펩티드는 직접 또는 간접적으로 Fc 도메인에 융합되어서 펩티바디를 제공한다. 본 발명의 펩티바디는 미오스타틴에 대해 높은 결합 친화력을 나타내고, 시험관내 실험 및 동물 실험에서 증명된 바와 같이, 미오스타틴의 활성을 저해할 수 있다.
- [0197] 또한, 본 발명은 본 발명의 펩티드, 펩티바디 및 펩티드 및 펩티바디의 변이체 및 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 핵산 분자를 제공한다. 대표적인 뉴클레오타이드 서열을 하기에 제시한다.
- [0198] **펩티드 및 펩티바디의 변이체 및 유도체**
- [0199] 또한, 본 발명의 결합체는 본원에서 기술된 펩티드 및 펩티바디의 변이체 및 결합체를 포괄한다. 본 발명의 펩티드 및 펩티바디 모두가 그 아미노산 서열로 기술될 수 있기 때문에, "변이체" 및 "유도체"란 용어는 펩티드 단독, 또는 펩티바디의 성분으로서의 펩티드에 적용될 수 있다. 본원에서 사용된 "펩티드 변이체"는 미오스타틴에 결합하고, 그 활성을 변형시키는 능력을 유지하는, 본래의 아미노산 서열 중으로의 하나 이상의 아미노산 잔기의 삽입, 결실 또는 치환을 가진 펩티드 또는 펩티바디를 지칭한다. 본원에서 사용된 펩티드 또는 펩티바디의 단편은 "변이체" 정의에 포함된다.
- [0200] 임의의 주어진 펩티드 또는 펩티바디가 한가지 또는 두가지 또는 세가지 모두의 변이체 유형을 함유할 수 있다는 것이 이해된다. 삽입 및 치환 변이체는 천연 아미노산과 아올러 비천연 아미노산 또는 이들 모두를 함유할 수 있다.

- [0201] 또한, 펩티드 및 펩티바디 변이체는 리더 또는 시그널 서열이 제거된 성숙형 펩티드 및 펩티바디를 함유하고, 천연형 또는 비천연형의 추가적인 아미노 말단 잔기를 가진 단백질을 생성한다. 아미노산 잔기-1번 위치에서 추가적인 메티오닐 잔기를 가진 펩티바디(Met^{-1} -펩티바디)가 고려되고, 2번 및 1번 위치에서 추가적인 메티오닐 및 리신 잔기를 갖는 펩티바디(Met^{-2} - Lys^{-1})가 고려된다. 추가적인 Met, Met-Lys, Lys 잔기(또는 일반적으로, 하나 이상의 염기성 잔기)를 갖는 변이체가 박테리아 숙주 세포에서 향상된 재조합 단백질 생산을 위해 특히 유용하다.
- [0202] 또한, 본 발명의 펩티드 또는 펩티바디 변이체는 특정 발현 시스템의 사용으로부터 기인하는 추가적인 아미노산 잔기를 갖는 펩티드를 포함한다. 예를 들어, 글루타티온-S-트랜스퍼라제(GST) 융합 생성물의 일부로서 목적인 폴리펩티드를 발현하는 상업적으로 구입할 수 있는 벡터의 사용은 목적인 폴리펩티드로부터 GST 성분을 절단한 후에, 아미노산 1번 위치에서 추가적인 글리신 잔기를 가진 목적인 폴리펩티드를 제공한다. 또한, 일반적으로 서열의 카르복시 및(또는) 아미노산 말단에서 히스티딘 태그가 아미노산 서열 중으로 도입된 것을 비롯하여 다른 벡터 시스템의 발현으로부터 생성된 변이체가 고려된다.
- [0203] 일례로, 천연 발생 또는 비천연 발생 아미노산인 1 이상의 아미노산 잔기가 펩티드 아미노산 서열에 첨가된 삽입 변이체가 제공된다. 삽입물은 단백질의 일 말단 또는 양 말단에 위치할 수 있거나, 또는 펩티바디 아미노산 서열의 내부 영역 내에 배치될 수 있다. 일 말단 또는 양 말단에 추가 잔기를 갖는 삽입 변이체는 예를 들면, 융합 단백질 및 아미노산 태그 또는 라벨을 포함하는 단백질을 포함할 수 있다. 삽입 변이체는 1 이상의 아미노산 잔기가 펩티드 아미노산 서열 또는 이의 단편에 첨가된 펩티드를 포함한다.
- [0204] 삽입 변이체는 또한 펩티드 또는 펩티바디의 아미노 및(또는) 카르복시 말단이 다른 폴리펩티드, 이의 단편 또는 아미노산(일반적으로 임의의 특정 단백질 서열의 일부로 여겨지지 않는 것)에 융합된 것인, 융합 단백질을 포함한다. 상기 융합 단백질의 예로는 면역성 폴리펩티드, 긴 순환 반감기를 갖는 단백질, 예를 들면 면역글로불린 불변 영역, 마커 단백질, 요망되는 펩티드 또는 펩티바디의 정제를 촉진하는 단백질 또는 폴리펩티드, 및 다량체 단백질의 형성을 증진시키는 폴리펩티드 서열(예를 들면, 이합체 형성/안정성에 유용한 루신 지퍼 모티프)이 있다.
- [0205] 상기 유형의 삽입 변이체는 일반적으로 제2 폴리펩티드의 전체 또는 일부에 N- 또는 C-말단에서 연결된 천연 분자의 전체 또는 상당 부분을 갖는다. 예를 들면, 융합 단백질은 통상적으로 이중 호스트에서 단백질의 재조합 발현을 허용하기 위해 다른 종으로부터의 리더 서열을 이용한다. 다른 유용한 융합 단백질은 융합 단백질의 정제를 촉진하기 위하여 항체 에피토프와 같은 면역성 활성 도메인의 삽입을 포함한다. 융합 접합부에서 또는 근처에서의 절단 부위의 포함은 정제 후 외래 폴리펩티드의 제거를 촉진할 수 있다. 다른 유용한 융합은 효소로부터의 활성 부위, 글리코실화 도메인, 세포 표적화 시그널 또는 막통과 영역과 같은 기능적 도메인의 연결을 포함한다.
- [0206] 본 발명에서 사용될 수 있는 다양한 상업적으로 입수가능한 융합 단백질 발현 시스템이 있다. 특히 유용한 시스템은 글루타티온-S-트랜스퍼라제 (GST) 시스템 (Pharmacia), 말토즈 결합 단백질 시스템 (NEB, Beverly, MA), FLAG 시스템 (IBI, New Haven, CT) 및 6xHis 시스템 (Qiagen, Chatsworth, CA)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 이들 시스템은 펩티드 또는 펩티바디의 활성화에 유의한 영향을 미칠 것 같지 않은 소수의 첨가 아미노산만을 지닌 재조합 펩티드 및(또는) 펩티바디를 생산가능하다. 예를 들면, FLAG 시스템 및 6xHis 시스템 모두 짧은 서열만을 첨가할 수 있고, 양자는 거의 항원성이 없다는 것이 공지되어 있으며, 천연 배열로의 접힘(folding)에 부정적으로 영향을 미치지 않는다. 유용한 것으로 예상되는 다른 N-말단 융합은 단백질 또는 펩티드의 N-말단 영역에서의 Met-Lys 디펩티드의 융합이다. 상기와 같은 융합은 단백질 발현 또는 활성화에서 유의한 증가를 일으킬 수 있다.
- [0207] 다른 융합 시스템은 요망되는 펩티드 또는 펩티바디로부터의 융합 파트너를 절제하는 것이 요망되는 폴리펩티드 하이브리드를 생성한다. 일 실시태양에서, 융합 파트너는 프로테아제에 대한 특이적 인식 서열을 포함하는 펩티드 서열에 의해 재조합 펩티바디에 연결된다. 적당한 서열의 예는 담배 에치(Etch) 바이러스 프로테아제 (Life Technologies, Gaithersburg, MD) 또는 제Xa 인자(New England Biolabs, Beverly, MA)에 의해 인식되는 것이다.
- [0208] 본 발명은 또한 말단절개된(truncated) 조직 인자 (tTF)와 함께 본 발명의 펩티드 또는 펩티바디의 전체 또는 일부를 포함하는 융합 폴리펩티드를 포함한다. tTF는 미국 특허 제5,877,289호, 제6,004,555호, 제6,132,729호, 제6,132,730호, 제6,156,321호 및 유럽 특허 제EP 0988056호에 기술된 바와 같은 중앙 혈관 응

고제로 작용하는 인간 응고-유도 단백질의 말단절개된 형태로 이루어진 혈관 표적화제이다. 항-미오스타틴 펩티바디 또는 펩티드에 대한 tTF의 융합 또는 이의 단편은 항-미오스타틴 길항제의 표적 세포(예: 골격 근육 세포, 심근 세포, 섬유아세포, 전-지방세포, 및 가능하게는 지방세포)로의 항-미오스타틴 길항제의 전달을 촉진한다.

[0209] 다른 측면에서, 본 발명은 펩티드 또는 펩티바디에서 1 이상의 아미노산 잔기가 제거된 결손 변이체를 제공한다. 결손은 펩티바디의 일 말단 또는 양 말단에서, 또는 펩티바디 아미노산 서열 내의 1 이상의 잔기의 제거로부터 영향을 받을 수 있다. 결손 변이체는 반드시 펩티드 또는 펩티바디의 모든 단편을 포함한다.

[0210] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 펩티드 또는 펩티바디의 치환 변이체를 제공한다. 치환 변이체는 1 이상의 아미노산 잔기가 제거되고, 1 이상의 별도 아미노산(이 아미노산은 천연 발생 또는 비천연 발생일 수 있음)으로 대체된, 펩티드 및 펩티바디를 포함한다. 치환 변이체는 최초 펩티드 또는 펩티바디와 "유사"한 펩티드 또는 펩티바디를 생성하고, 여기서 2 분자는 특정 %의 동일 아미노산을 갖는다. 치환 변이체는 펩티드 또는 펩티바디 내에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 및 20 아미노산의 치환을 포함하고, 여기서 치환 수는 펩티드 또는 펩티바디의 아미노산 10% 이하일 수 있다. 일 측면에서, 치환은 천연에서 보존되나, 본 발명은 또한 비보존적이고, 또한 비통상적 아미노산을 포함하는 치환을 포함한다.

[0211] 관련 펩티드 및 펩티바디의 동일성 및 유사성은 공지된 방법에 의해 용이하게 계산될 수 있다. 일부 방법은 문헌[Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York (1988)]; [Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York (1993)]; [Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey (1994)]; [Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press (1987)]; [Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991)]; 및 [Carillo 등, SIAM. J. Applied Math., 48:1073 (1998)]에 기술된 것을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0212] 2개의 펩티드 또는 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드 및 펩티드의 관련성 또는 % 동일성을 측정하는 바람직한 방법은 시험 서열 간의 가장 큰 매치를 가져오도록 고안된다. 동일성을 측정하는 방법은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 프로그램에 기술되어 있다. 2 서열 간의 동일성을 측정하기 위한 바람직한 컴퓨터 프로그램 방법은 GAP을 비롯한 GCG 프로그램 팩키지 (Devereux 등, Nucl. Acid. Res., 12:387 (1984); Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI, BLASTP, BLASTN, 및 FASTA (Altschul 등, J. Mol. Biol., 215:403-410 (1990))을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. BLASTX 프로그램은 "National Center for Biotechnology Information (NCBI)" 및 다른 소스 (BLAST Manual, Altschul 등 NCB/NLM/NIH Bethesda, MD 20894; Altschul 등, supra (1990))으로부터 공개적으로 이용가능하다. 공지된 스미스 와터만 알고리즘(Smith Waterman algorithm) 또한 동일성을 측정하기 위하여 이용될 수 있다.

[0213] 2 아미노산 서열을 정렬하기 위한 특정 정렬 개요는 2 서열의 단지 짧은 영역만을 매칭하는 결과를 가져올 수 있고, 이 작은 정렬된 영역은 2개의 전장 서열 간에 유의한 관계가 없을지라도 매우 높은 서열 동일성을 가질 수 있다. 따라서, 특정 실시태양에서, 선택된 정렬 방법은 비교되는 표적 폴리펩티드의 전장의 적어도 10%, 즉 적어도 400 아미노산의 서열이 비교되는 경우 적어도 40 인접 아미노산, 적어도 300 내지 약 400 아미노산의 서열이 비교되는 경우 30 인접 아미노산, 200 내지 약 300 아미노산의 서열이 비교되는 경우 적어도 20 인접 아미노산, 및 약 100 내지 200 아미노산의 서열이 비교되는 경우 적어도 10 인접 아미노산을 스페닝하는 정렬을 가져올 수 있다. 예를 들면, 컴퓨터 알고리즘 GAP (Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI)를 이용하여, % 서열 동일성이 측정되는 2개의 폴리펩티드가 이들 각각의 아미노산의 최적 매칭으로 정렬된다 (알고리즘에 의해 측정되는 바와 같은 "매치된 스패"). 특정 실시태양에서, 갭 오픈링 페널티 (평균 항의 3X로 통상적으로 계산됨; "평균 항(average diagonal)"은 이용되는 비교 매트릭스의 대각선의 평균이고; "항"은 특정 비교 매트릭스에 의해 각 완전 아미노산 매치에 할당된 스코어 또는 수이다) 및 갭 연장 페널티 (통상적으로 갭 오픈링 페널티의 1/10배임) 뿐만 아니라 PAM 250 또는 BLOSUM 62와 같은 비교 매트릭스가 알고리즘과 함께 이용된다. 특정 실시태양에서, 표준 비교 매트릭스 (PAM250 비교 매트릭스에 대하여는 문헌[Dayhoff 등, Atlas of Protein Sequence and Structure, 5(3)(1978)], 및 BLOSUM 62 비교 매트릭스에 대하여는 문헌[Henikoff 등, Proc. Natl. Acad. Sci USA, 89:10915-10919 (1992)] 참조)가 또한 알고리즘에 의해 이용된다.

[0214] 특정 실시태양에서, 예를 들면, 폴리펩티드 서열 비교에 대한 파라미터가 다음을 이용하여 만들어질 수 있다: 알고리즘: 문헌[Needleman 등, J. Mol. Biol., 48:443-453 (1970)]; 비교 매트릭스: 상기 문헌[Henikoff 등,

supra (1992)]로부터의 BLOSUM 62; 갭 페널티: 12; 갭 길이 페널티: 4; 유사성 역치: 0와 함께 말단 갭에 대하여 페널티 없음.

- [0215] 특정 실시태양에서, (아미노산 서열에 대항하는) 폴리뉴클레오타이드 분자 서열 비교에 대한 파라미터는 다음을 이용하여 만들어질 수 있다: 알고리즘: 문헌[Needleman 등, supra (1970)]; 비교 매트릭스: 매치=+10, 미스매치=-0; 갭 페널티: 50; 갭 길이 페널티: 3.
- [0216] 일 예시적 알고리즘, 갭 오픈링 페널티, 갭 연장 페널티, 비교 매트릭스, 유사성의 역치 등은 [Program Manual, Wisconsin Package, Version 9, September, 1997]에 제시된 것을 포함하여 사용될 수 있다. 특정 선택사항은 당업자들에게 명백할 수 있고, 구체적 비교, 예를 들면 DNA-대-DNA, 단백질-대-단백질, 단백질-대-DNA, 및 추가로 비교가 주어진 쌍의 서열 간 (이 경우 GAP 또는 BestFit이 일반적으로 바람직함) 또는 한 서열과 큰 데이터 베이스의 서열 간 (이 경우 FASTA 또는 BLAST가 바람직함)에 이루어지는지에 의존할 수 있다.
- [0217] 20개의 통상적인 (천연 발생) 아미노산, 비천연 발생 아미노산, 예를 들면, α -, α -이치환된 아미노산, N-알킬 아미노산, 젖산, 및 다른 비전형적인 아미노산의 입체이성질체(예: D-아미노산)이 또한 본 발명의 펩티드에 적당한 구성요소일 수 있다. 비천연 아미노산의 예는 아미노아디프산, 베타-알라닌, 베타-아미노프로피온산, 아미노부티르산, 피페리딘산, 아미노카프리오산, 아미노헵타노산, 아미노이소부티르산, 아미노피델산, 디아미노부티르산, 데스모신, 디아미노피델산, 디아미노프로피온산, N-에틸글리신, N-에틸아스파라긴, 히드록시리신, 알로-히드록시리신, 히드록시프롤린, 이소데스모신, 알로-이소루신, N-메틸글리신, 사르코신, N-메틸이소루신, N-메틸발린, 노르발린, 노르루신, 오르니틴, 4-히드록시프롤린, γ -카복시글루타메이트, ϵ -N,N,N-트리메틸리신, ϵ -N-아세틸리신, O-포스포세린, N-아세틸세린, N-포르밀메티오닌, 3-메틸히스티딘, 5-히드록시리신, σ -N-메틸아르기닌 및 다른 유사 아미노산 및 아미노산 (예: 4-히드록시프롤린)을 포함한다.
- [0218] 천연 발생 잔기는 통상적 측쇄 성질에 기초하여 군으로 분류될 수 있다(중복됨):
- [0219] 1) 중성 소수성: Met, Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Trp, Met, Phe;
- [0220] 2) 중성 극성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln, Tyr, Gly;
- [0221] 3) 산성: Asp, Glu;
- [0222] 4) 염기성: His, Lys, Arg;
- [0223] 5) 측쇄 배열에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro; 및
- [0224] 6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.
- [0225] 아미노산의 치환은 보존적일 수 있고, 이는 최초 펩티드의 것과 유사한 기능적 및 화학적 특성을 갖는 펩티드를 생성한다. 보존적 아미노산 치환은 상기 군의 일 구성원을 동일 군의 다른 구성원으로 교환하는 것을 포함한다. 보존적 변화는 비통상적 아미노산 잔기를 포함하고, 이는 통상적으로 생물 시스템에서의 합성에 의한 것보다 화학적 펩티드 합성에 의해 혼입된다. 이들은 펩티도미메틱 및 아미노산 성분의 다른 역전 또는 반전 형태를 포함한다.
- [0226] 비보존적 치환은 이들 군의 일 구성원을 다른 군의 구성원으로 교환하는 것을 포함한다. 이들 변화는 펩티드의 기능적 및(또는) 화학적 특성에 실질적 변경을 가져올 수 있다. 특정 실시태양에 따르면, 상기 변화를 일으키는 것에서 아미노산의 수치(hydropathic) 인덱스가 고려될 수 있다. 각 아미노산은 소수성 및 전하 특성에 기초하여 수치 인덱스가 정해진다. 이들은 다음과 같다: 이소루신 (+4.5); 발린 (+4.2); 루신 (+3.8); 페닐알라닌 (+2.8); 시스테인/시스틴 (+2.5); 메티오닌 (+1.9); 알라닌 (+1.8); 글리신 (-0.4); 트레오닌 (-0.7); 세린 (-0.8); 트립토판 (-0.9); 티로신 (-1.3); 프롤린 (-1.6); 히스티딘 (-3.2); 글루타메이트 (-3.5); 글루타민 (-3.5); 아스파테이트 (-3.5); 아스파라긴 (-3.5); 리신 (-3.9); 및 아르기닌 (-4.5).
- [0227] 단백질 상의 상호작용 생물학적 기능을 부여하는 것에서의 수치 아미노산의 중요성은 당업자들에게 이해된다. 문헌[Kyte 등, J. Mol. biol., 157:105-131 (1982)]. 특정 아미노산이 유사한 수치 인덱스 또는 스코어를 갖는 다른 아미노산으로 치환되고, 여전히 유사한 생물학적 활성을 유지할 수 있음이 공지되어 있다. 특정 실시태양에서, 수치 인덱스에 기초한 변화를 일으키는 것에서 수치 인덱스가 ± 2 내인 아미노산의 치환이 포함된다. 특정 실시태양에서, ± 1 내인 것이 포함되고, 특정 실시태양에서 ± 5 내인 것이 포함된다.
- [0228] 유사 아미노산의 치환이 친수성, 특히 이에 의해 생성되는 생물학적 기능성 펩티바디 또는 펩티드가 본 발명에서와 같은 면역원성 실시태양에서 이용되도록 의도되는 것이 효과적으로 이루어질 수 있음이 당업계에서 이해된

다. 특정 실시태양에서, 인접 아미노산의 친수성에 의해 지배되는 바와 같은, 단백질의 가장 큰 국소 평균 친수성은 면역원성 및 항원성, 즉 단백질의 생물학적 성질과 연관된다.

[0229]

다음의 친수성 값이 이들 아미노산 잔기에 대하여 정해진다: 아르기닌 (+3.0); 리신 (+3.0); 아스파테이트 (+3.0±1); 글루타메이트 (+3.0±1); 세린 (+3.0); 아스파라긴 (+0.2); 글루타민 (+0.2); 글리신 (0); 트레오닌 (-0.4); 프롤린 (-0.5±1); 알라닌 (-0.5); 히스티딘 (-0.5); 시스테인 (-1.0); 메티오닌 (-1.3); 발린 (-1.5); 루신 (-1.8); 이소루신 (-1.8); 티로신 (-2.3); 페닐알라닌 (-2.5) 및 트립토판 (-3.4). 특정 실시태양에서, 유사한 친수성 값에 기초한 변화를 일으키는 것에서 친수성 값이 ±2 내인 아미노산의 치환, 특정 실시태양에서, ±1 내인 것, 특정 실시태양에서 ±0.5 내인 것이 포함된다. 또한, 친수성에 기초하여 1차 아미노산 서열로부터의 에피토프를 확인할 수 있다. 이들 영역은 또한 "에피토프 코어 영역"으로 지칭된다.

[0230]

대표적인 아미노산 치환은 하기에 나타내었다.

아미노산 치환		
원 잔기	대표적인 치환	바람직한 치환
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln, Glu, Asp	Gln
Asp	Glu, Gln, Asp	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn, Glu, Asp	Asn
Glu	Asp, Gln, Asn	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, 노르루신	Leu
Leu	노르루신, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 디아미노-부티르산, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, 노르루신	Leu

[0231]

[0232]

당업자는 예를 들면 무작위 치환 및 얻은 펩티드 또는 펩티마디를 본원에 기술된 분석을 이용하여 결합 활성을 시험하는 것에 의해 본 발명의 펩티드 또는 펩티마디의 변이체를 제조할 수 있을 것이다.

[0233]

추가로, 당업자는 활성 또는 구조에 중요한 유사 폴리펩티드에서의 잔기를 확인하기 위하여 구조-기능 연구 또는 3차원 구조 분석을 검토할 수 있다. 상기 비교의 관점에서, 유사 단백질에서 활성 또는 구조에 중요한 아미노산 잔기에 상응하는 단백질에서의 아미노산 잔기의 중요성을 예측할 수 있다. 당업자는 상기 예견되는 중요한 아미노산 잔기에 대하여 화학적으로 유사한 아미노산 치환을 채택할 수 있다. 이어서, 변이체는 본원에 기술된 활성 분석을 이용하여 스크리닝될 수 있다.

[0234]

2차 구조의 예상에 관한 다수의 과학 문헌이 존재한다. 문헌[Moult J., Curr. Op. in Biotech., 7(4):422-427 (1996)], [Chou 등, Biochemistry, 13(2):222-245 (1974)], [Chou 등, Biochemistry, 113(2):211-222 (1974)], [Chou 등, Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol., 47:45-148 (1978)], [Chou 등, Ann. Rev. Biochem., 47:251-276] 및 [Chou 등, Biophys. J., 26:367-384 (1979)]를 참조. 나아가, 현재 2차 구조를 예측하는 것을 도와주는 컴퓨터 프로그램도 이용가능하다. 2차 구조를 예측하는 한 방법은 상동성 모델링에 기초한 것이다. 예를 들면, 30% 초과와 서열 상동성 또는 40% 초과와 유사성을 갖는 2개의 폴리펩티드 또는 단백질은 종종 유사한 구조 위상을 갖는다. 단백질 구조 데이터베이스(protein structural database; PDB)의 근래의 성장은 단백질 구조 내의 가능한 주름(fold)의 수를 비롯하여, 2차 구조의 예측성을 증가시켜 준다. 문헌[Holm 등, Nucl. Acid. Res., 27(1):244-247 (1999)] 참조. 주어진 단백질 중 제한된 수의 주름이 존재하고, 일단

결정적인 수의 구조가 결정되면 구조 예측이 극적으로 더욱 정확해질 수 있다는 것이 제안되었다 (Brenner 등, Curr. Op. Struct. Biol., 7(3):369-376 (1997)).

- [0235] 2차 구조를 예측하는 다른 방법은 "스레딩(threading)" (Jones, D., Curr. Opin. Struct. Biol., 7(3):377-87 (1997); Sippl 등, Structure, 4(1):15-19 (1996)), "프로파일 분석(profile analysis)" (Bowie 등, Science, 253:164-170 (1991); Gribskov 등, Meth. Enzym., 183:146-159 (1990); Gribskov 등, Proc. Nat. Acad. Sci., 84(13):4355-4358 (1987)), 및 "진화적 연계(evolutionary linkage)" (Holm, 상기 문헌 (1999) 및 Brenner, 상기 문헌 (1997) 참조)를 포함한다.
- [0236] 특정 실시태양에서, 펩티드 또는 펩티바디 변이체는 N-연결 글리코실화 부위와 같은 1 이상의 글리코실화 부위가 펩티바디에 첨가된 글리코실화 변이체를 포함한다. N-연결 글리코실화 부위는 서열 Asn-X-Ser 또는 Asn-X-Thr을 특징으로 하고, 여기서 X로 지정된 아미노산 잔기는 프롤린을 제외한 모든 아미노산 잔기일 수 있다. 상기 서열을 생성하기 위한 아미노산 잔기의 치환 또는 첨가는 N-결합 탄수화물 사슬의 첨가에 대한 가능한 신규 부위를 제공한다. 별법으로, 상기 서열을 삭제하는 치환은 기존 N-연결 탄수화물 사슬을 제거할 수 있다. 또한, 1 이상의 N-결합 글리코실화 부위 (통상적으로 천연 발생의 것)이 삭제되고 1 이상의 신규 N-결합 부위가 생성된 N-연결 탄수화물 사슬의 재배열이 제공된다.
- [0237] 본 발명은 또한 본 발명의 펩티드 또는 펩티바디의 "유도체"를 제공한다. 본원에서 사용된 용어 "유도체(derivative)"는 미오스타틴에 결합하는 능력을 유지하는 아미노산 잔기의 삽입, 결손 또는 치환 뿐만 아니라, 또는 이외의 변형을 지칭한다.
- [0238] 바람직하게는, 유도체를 제조하기 위하여 본 발명의 펩티드에 일어난 변형은 성질상 공유적이고, 예를 들면 중합체, 지질, 다른 유기 및 무기 부분과의 화학 결합을 포함한다. 본 발명의 유도체는 펩티바디의 순환 반감기를 증가시키기 위해 제조될 수 있거나, 또는 펩티바디의 요망되는 세포, 조직 또는 기관에 대한 표적화 능력을 개선하기 위하여 고안될 수 있다.
- [0239] 본 발명은 또한 미국 특허 제4,640,835호, 제4,496,689호, 제4,301,144호, 제4,670,417호, 제4,791,192호 및 제4,179,337호에 기술된 바와 같은, 1 이상의 수용성 중합체 부착물(예: 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜)을 포함하도록 공유 변형된 유도체 결합체를 포함한다. 당업계에 공지된 또 다른 유용한 중합체는 모노메톡시-폴리에틸렌 글리콜, 텍스트란, 셀룰로스 또는 다른 탄수화물 기재 중합체, 폴리-(N-비닐 피롤리돈)-폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸렌화 폴리올(예: 글리세롤) 및 폴리비닐 알콜 뿐만 아니라 이들 중합체의 혼합물을 포함한다. 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 서브유닛으로 공유 변형된 펩티바디가 특히 바람직하다. 수용성 중합체는 특정 위치, 예를 들면 펩티바디의 아미노산 말단에서 결합되거나, 또는 폴리펩티드의 1 이상의 측쇄에 무작위로 부착될 수 있다. 결합체(예: 펩티바디)에 대한 치료 능력을 개선하기 위하여, 및 특히 인간화 항체에 대한 PET의 용도는 미국 특허 제6,133,426호(Gonzales 등, 2000년 10월 17일)에 기술되어 있다.
- [0240] 본 발명은 또한 미오스타틴 결합체의 펩티드 및(또는) 비히클 부위의 유도체화를 예상한다. 이러한 유도체는 화합물의 용해도, 흡수, 생물학적 반감기 등을 개선할 수 있다. 이 성분은 별법으로 화합물의 임의의 바람직하기 않은 부작용 등을 삭제 또는 약화시킬 수 있다. 유도체의 예로는 하기 화합물을 들 수 있다:
- [0241] 1. 유도체 또는 이의 일부 부분은 시클릭이다. 예를 들면, 펩티드 부분은 디설피드 결합 형성에 의해 시클릭화될 수 있는 2 이상의 Cys 잔기를 (예를 들면, 링커 중에) 포함하도록 변형될 수 있다.
- [0242] 2. 유도체는 교차-결합되거나, 또는 분자 간에 교차 결합 가능하도록 될 수 있다. 예를 들면, 펩티드 부분은 1 개의 Cys 잔기를 포함하도록 변형될 수 있고, 이에 의해 유사 분자와 분자간 디설피드 결합을 형성할 수 있다. 유도체는 또한 이의 C-말단을 통하여 교차 결합될 수 있다.
- [0243] 3. 1 이상의 펩티딜 [-C(O)NR-] 연결 (결합)은 비펩티딜 연결에 의해 대체된다. 예시적 비펩티딜 연결은 -CH₂-카르바메이트 [-CH₂-OC(O)NR-], 포스포네이트, -CH₂-술폰아미드 [-CH₂-S(O)₂NR-], 우레아 [-NHC(O)NH-], -CH₂-이차 아민 및 알킬화 펩티드 [-C(O)NR₆-, 여기서 R₆은 저급 알킬임]이다.
- [0244] 4. N-말단이 유도체화된다. 통상적으로, N-말단은 이산화되거나 치환된 아민으로 변형될 수 있다. 예시적 N-말단 유도체기는 -NRR₁ (-NH₂는 제외), -NRC(O)R₁, -NRC(O)OR₁, -NRS(O)₂R₁, -NHC(O)NHR₁, 숙신이미드 또는 벤질

옥시카르보닐-NH- (CBZ-NH-)을 포함하고, 여기서 R 및 R₁은 각각 독립적으로 수소 또는 저급 알킬이고, 여기서 페닐 환은 C₁-C₄ 알킬, C₁-C₄ 알콕시, 클로로 및 브로모로 이루어진 군으로부터 선택되는 1 내지 3개의 치환체로 치환될 수 있다.

[0245] 5. 유리 C-말단이 유도체화된다. 통상적으로, C-말단은 에스테르화되거나 또는 아미드화된다. 예를 들면, 당 업계에 기술된 방법을 이용하여 (NH-CH₂-CH₂-NH₂)₂를 C-말단에서 본 발명의 화합물에 첨가할 수 있다. 마찬가지로, 당 업계에 기술된 방법을 이용하여 -NH₂ (또는 -NH₂기로의 "캡핑(capping)")를 C-말단에서 본 발명의 화합물에 첨가할 수 있다. 예시적 C-말단 유도체기는 예를 들면 -C(O)R₂를 포함하고, 여기서 R₂는 저급 알콕시 또는 -NR₃R₄이고, 여기서 R₃ 및 R₄는 독립적으로 수소 또는 C₁-C₈ 알킬 (바람직하게는 C₁-C₄ 알킬)이다.

[0246] 6. 디설파이드 결합은 다른, 바람직하게는 더욱 안정한 교차 결합 성분 (예: 알킬렌)으로 대체된다. 예를 들면, 문헌[Bhatnagar 등, J Med Chem 39:3814-9 (1996)], [Alberts 등, Thirteenth Am Pep Symp, 357-9 (1993)]을 참조.

[0247] 7. 1 이상의 개별 아미노산 잔기가 변형된다. 하기 상세하게 기술되는 바와 같이, 선택된 측쇄 또는 말단 잔기와 특이적으로 반응하도록 다양한 유도체화제가 공지되어 있다.

[0248] 리시닐 잔기 및 아미노산 말단 잔기는 리시닐 잔기의 전하를 역전시키는 숙신산 또는 다른 카르복실산 무수물과 반응할 수 있다. 알파-아미노-함유 잔기를 유도체화하기 위한 다른 적당한 시약은 이미도에스테르(예: 메틸 피콜린이미데이트); 피리독살 포스페이트; 피리독살; 클로로보로히드리드; 트리니트로벤젠술포산; 0-메틸이소우레아; 2,4-펜탄디온; 및 글리옥실레이트와의 트랜스아미나제-촉매화 반응을 포함한다.

[0249] 아르기닐 잔기는 페닐글리옥살, 2,3-부탄디온, 1,2-시클로헥산디온 및 닌히드린을 비롯한 여러 통상적 시약 중 임의의 1개 또는 조합과의 반응에 의해 변형될 수 있다. 아르기닐 잔기의 유도체화는 구아니딘 관능기의 높은 pKa로 인하여 알칼리성 조건 중에서 반응이 수행될 것을 요한다. 나아가, 상기 시약은 리신 기 뿐만 아니라 아르기닌 입실론-아미노기와 반응할 수 있다.

[0250] 티로실 잔기의 특이적 변형은 광범위하게 연구되었고, 특히 방향족 디아조늄 화합물 또는 테트라니트로메탄과의 반응에 의한 티로실 잔기로의 스펙트럼 라벨의 도입을 관심사항으로 한다. 가장 통상적으로, N-아세틸이미디졸 및 테트라니트로메탄을 이용하여 0-아세틸 티로실 중 및 3-니트로 유도체를 각각 형성한다.

[0251] 카르복실 측쇄 기 (아스파르틸 또는 글루타밀)은 1-시클로헥실-3-(2-모르폴리닐-(4-에틸)카르보디이미드 또는 1-에틸-3-(4-아조니아-4,4-디메틸페닐)카르보디이미드와 같은 카르보디이미드 (R'-N=C=N-R')과의 반응에 의해 선택적으로 변형될 수 있다. 나아가, 아스파르틸 및 글루타밀 잔기는 암모늄 이온과의 반응에 의해 아스파라기닐 및 글루타미닐 잔기로 전환될 수 있다.

[0252] 글루타미닐 및 아스파라기닐 잔기는 상응하는 글루타밀 및 아스파르틸 잔기로 탈아미드화될 수 있다. 별법으로, 이들 잔기는 약간 산성 조건하에서 탈아미드화될 수 있다. 이들 잔기의 각각의 형태는 본 발명의 범위 내에 속한다.

[0253] 시스테인 잔기는 각각 아미노산 잔기 또는 다른 부분에 의해 대체되어 디설파이드 결합을 제거하거나, 또는 역으로 교차결합을 안정화할 수 있다. 예를 들면, Bhatnagar 등의 상기 문헌 참조.

[0254] 이관능성제와의 유도체화는 수불용성 지지체 매트릭스 또는 다른 거대분자 비히클에 대한 펩티드 또는 이들의 관능성 유도체의 교차결합에 유용하다. 통상적으로 사용되는 교차결합제는 예를 들면, 1,1-비스(디아조아세틸)-2-페닐에탄, 글루타르알데히드, N-히드록시숙신이미드 에스테르, 예를 들면 4-아지도살리실산과의 에스테르, 호모이관능성 이미도에스테르 (3,3'-디티오비스(숙신이미드프로피오네이트)와 같은디숙신이미드 에스테르를 포함함) 및 이관능성 말레이미드, 예를 들면 비스-N-말레이미도-1,8-옥탄을 포함한다. 메틸-3-[(p-아지도페닐)디티로]프로피오이미데이트와 같은 유도체화제는 빛의 존재하에서 교차결합을 형성할 수 있는 광활성화 가능한 중간체를 생성한다. 별법으로, 미국 특허 제3,969,287호, 제3,691,016호, 제4,195,128호, 제4,247,642호, 제4,229,537호 및 제4,330,440호에 기술된 반응성 기질 및 시아노겐 브로마이드-활성화 탄수화물과 같은 반응성 수불용성 매트릭스가 단백질 고정화에 이용된다.

[0255] 탄수화물(올리고사카라이드) 기는 단백질 중 글리코실화 부위로 공지된 부위에 공유적으로 부착될 수 있다. 일반적으로, 서열 Asn-X-Ser/Thr의 일부인 경우(여기서, X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산일 수 있음) 0-연결 올리고사카라이드는 세린(Ser) 또는 트레오닌(Thr) 잔기에 부착되는 반면, N-연결 올리고사카라이드는 아스파라

긴 (Asn) 잔기에 부착된다. X는 바람직하게는 프롤린 이외의 19개의 천연 발생 아미노산 중 하나이다. 각 유형에서 발견되는 N-연결 및 O-연결 올리고사라이드 및 당 잔기의 구조는 상이하다. 양자 모두에서 통상적으로 발견되는 당의 한 유형은 N-아세틸뉴라민산 (시알산으로 지칭됨)이다. 시알산은 통상적으로 N-연결 및 O-연결 올리고사카라이드 모두의 말단 잔기이고, 음성 전하로 인하여, 글리코실화 화합물에 산성 성질을 부여할 수 있다. 이러한 부위(들)은 본 발명의 화합물의 링커에 도입될 수 있고, 바람직하게는 폴리펩티드 화합물의 제조합 생산 도중에 세포에 의해 글리코실화될 수 있다 (예를 들면, CHO, BHK, COS와 같은 포유동물 세포에서). 그러나, 이러한 부위는 당업계에 공지된 합성 또는 반합성 공정에 의해 추가로 글리코실화될 수 있다.

[0256]

다른 가능한 변형은 프롤린 및 리신의 히드록실화, 세릴 또는 트레오닐 잔기의 히드록실기의 포스포릴화, Cys 중 황 원자의 산화, 리신, 아르기닌 및 히스티딘 측쇄의 알파-아미노기의 메틸화를 포함한다 [예를 들면, 문헌 [Creighton, Proteins: Structure and Molecule Properties (W.H. Freeman & Co., San Francisco), pp. 79-86 (1983) 참조].

[0257]

본 발명의 화합물은 또한 DNA 수준에서 변화될 수 있다. 화합물의 여하한 부분의 DNA 서열은 선택된 숙주 세포에 보다 적합한 코돈으로 변화될 수 있다. 바람직한 숙주 세포인 대장균에 대하여, 최적화된 코돈은 당업계에 공지되어 있다. 코돈은 치환되어 제한 부위를 제거하거나 또는 사일런트(silent) 제한 부위를 포함할 수 있고, 이는 선택된 숙주 세포에서의 DNA의 처리를 보조할 수 있다. 비히클, 링커 및 펩티드 DNA 서열은 임의의 상기 서열 변화를 포함하도록 변형될 수 있다.

[0258]

안정화된 구조 및 감소된 생분해를 제공하는 비펩티드 유사체를 포함하는 추가 유도체가 또한 포함된다. 펩티드 모방 유사체는 1 이상의 잔기를 비펩티드 성분으로 대체하는 것에 의해 선택된 억제 펩티드에 기초하여 제조될 수 있다. 바람직하게는, 비펩티드 성분은 펩티드가 이의 천연 증거를 유지하거나, 미오스타틴을 인식하고 결합하는 능력을 유지하는 바람직한(예를 들면, 생활성) 증거를 안정화하도록 한다. 한 측면에서, 얻은 유사체/모방체는 미오스타틴에 대하여 증가된 결합 친화력을 나타낸다. 펩티드로부터의 비펩티드 모방 유사체를 제조하는 방법의 한 예는 문헌[Nachman 등, Regul Pept 57:359-370 (1995)]에 기술되어 있다. 요망되는 경우, 본 발명의 펩티드는 예를 들면 글리코실화, 아마이드화, 카르복실화 또는 포스포릴화에 의해서, 또는 본 발명의 펩티드의 산 부가염, 아마이드, 에스테르 (특히 C-말단에서) 및 N-아실 유도체를 생성하는 것에 의해 변형될 수 있다. 펩티마디는 또한 다른 성분과 공유 또는 비공유 복합체를 형성하는 것에 의해 펩티드 유도체를 생성하도록 변형될 수 있다. 공유 결합된 복합체는 펩티마디를 포함하는 아미노산의 측쇄 상에서 또는 N- 또는 C-말단에서 관능기에 화학 성분을 연결하는 것에 의해 제조될 수 있다.

[0259]

구체적으로, 펩티드는 리포터(reporter)기에 컨쥬게이션될 수 있고, 리포터 기는 방사성라벨, 형광 라벨, 효소 (예를 들면, 비색 또는 비형광 반응을 촉매하는 효소), 기질, 고체 매트릭스 또는 담체(예: 비오틴 또는 아비딘)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명은 따라서 펩티마디 분자를 포함하는 분자를 제공하고, 여기서 상기 분자는 바람직하게는 방사성라벨, 형광 라벨, 효소, 기질, 고체 매트릭스 및 담체로 이루어지는 군으로부터 선택되는 리포터 기를 더 포함한다. 상기 라벨은 당업자들에게 잘 알려져 있고, 예를 들면 비오틴 라벨이 구체적으로 포함된다. 상기 라벨의 사용은 당업자들에게 잘 알려져 있고, 예를 들면 미국 특허 제3,817,837호, 제3,850,752호, 제3,996,345호 및 제4,277,437호에 기술되어 있다. 유용할 수 있는 다른 라벨은 방사형성 라벨, 형광 라벨 및 화학발광 라벨을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 상기 라벨의 사용에 관한 미국 특허는 예를 들면 미국 특허 제3,817,837호, 제3,850,752호, 제3,939,350호 및 제3,996,345호를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 임의의 펩티마디는 임의의 이들 라벨을 1, 2 또는 그 이상 포함할 수 있다.

[0260]

펩티드 및 펩티마디의 제조 방법

[0261]

본 발명의 펩티드는 당업계에 공지된 다양한 기술을 이용하여 생성될 수 있다. 예를 들면, 상기 펩티드는 통상적인 기술에 따라서 용액 중에서 또는 고체 지지체 상에서 합성될 수 있다. 다양한 자동 합성기가 상업적으로 입수가능하고, 공지된 프로토콜에 따라서 사용될 수 있다. 예를 들면, 각각 본원에 참고문헌으로 삽입된, 문헌 [Steward and Young (상기 문헌), [Tam 등, J Am Chem Soc, 105:6442, (1983)]; [Merrifield, Science 232:341-347 (1986)]; [Barany and Merrifield, The Peptides, Gross and Meienhofer, eds, Academic Press, New York, 1-284]; [Barany 등, Int J Pep Protein Res, 30:705-739 (1987)]; 및 미국 특허 제5,424,398를 참조.

[0262]

고체상 펩티드 합성 방법은 중합체 g 당 0.1-1.0 mM 아민을 함유하는 코폴리(스티렌-디비닐벤젠)을 이용한다. 펩티드 합성을 위한 이들 방법은 알파-아미노 기의 부틸옥시카르보닐(t-BOC) 또는 9-플루오레닐메틸옥시-카르보닐(FMOC) 보호를 이용한다. 양 방법 모두 단계적 합성을 포함하고, 이에 의해 단일 아미노산이 펩티드의 C-말

단에서 시작하는 각 단계에서 첨가된다 (문헌[Coligan 등, Curr Prot Immunol, Wiley Interscience, 1991, Unit 9] 참조). 화학적 합성 조료시, 합성 펩티드는 탈보호되어 t-BOC 또는 FMOC 아미노산 블로킹기를 제거하고, 감소된 온도에서의 산으로의 처리(예를 들면, 0℃에서 약 0.25 내지 약 1 시간 동안 액체HF-10% 아니솔)에 의해 중합체로부터 절단될 수 있다. 시약의 증발 후, 펩티드는 1% 아세트산 용액을 이용하여 중합체로부터 추출되고, 이어서 동결건조되어 조 물질을 얻는다. 이는 통상적으로 용매로 5% 아세트산을 이용한 세파덱스(Sephadex) G-15 상에서의 겔 여과와 같은 기술에 의해 정제될 수 있다. 칼럼의 적합한 분획의 동결건조로 균일 펩티드 또는 펩티드 유도체를 얻을 수 있고, 이어서 이는 아미노산 분석, 박층 크로마토그래피, 고성능 액체 크로마토그래피, 자외선 흡수 스펙트럼분석, 몰 회전, 용해도 및 고체상 에드만(Edman) 분해에 의한 정량분석과 같은 표준 기술에 의해 특성화될 수 있다.

[0263] 파지 디스플레이 기술은 상기 기술된 바와 같은 본 발명의 펩티드를 확인하는데 특히 효과적일 수 있다. 간략하게, (예를 들면, ml 13, fd 또는 람다 파지를 이용하여), 4 내지 약 80 아미노산 잔기의 삽입물을 디스플레이 하는 파지 라이브러리가 제조된다. 삽입물은 예를 들면, 완전히 디제너레이트(degenerate) 또는 바이어스된 배열을 나타낼 수 있다. 요망되는 항원에 결합하는 파지 함유 삽입물이 선택되고, 이 과정이 요망되는 항원에 결합되는 파지 재선택의 여러 사이클을 통하여 반복된다. DNA 서열분석을 수행하여 발현된 펩티드의 서열을 동정한다. 요망되는 항원에 결합하는 서열의 최소 선형 부분이 상기 방법으로 결정된다. 상기 과정은 최소 선형 부분의 부분 또는 전체 + 이의 상류 또는 하류에 1 이상의 추가 디제너레이트 잔기를 함유하는 삽입물을 포함하는 바이어스된 라이브러리를 이용하여 반복될 수 있다. 이러한 기술은 본원에서 이미 동정된 물질보다 미오스타틴에 대하여 여전히 더 큰 친화력을 갖는 본 발명의 펩티드를 동정할 수 있다.

[0264] 펩티드가 제조되는 방식과 무관하게, 이들 펩티드 각각을 코딩하는 핵산 분자는 표준 재조합 DNA 절차를 이용하여 생성될 수 있다. 이러한 분자의 뉴클레오타이드 서열은 핵산 코드의 디제너러시(degeneracy)의 원인이 될 뿐만 아니라 특정 숙주 세포에서 코돈 선호도의 원인이 되도록하는 이들이 코딩하는 아미노산 서열의 변화없이 적합하게 조작될 수 있다.

[0265] 본 발명은 또한 본 발명의 펩티드 또는 펩티바디를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 분자를 제공한다. 이들 핵산 분자는 본 발명의 펩티드 및 펩티바디 뿐만 아니라 펩티드 및 펩티바디 변이체 및 유도체를 포함하는 벡터 및 구조물을 포함한다. 예시적 핵산 분자는 하기 실시예에 제공된다.

[0266] 재조합 DNA 기술은 또한 본 발명의 전장 펩티바디 및 다른 큰 폴리펩티드 결합체, 또는 이의 단편을 제조하는 편리한 방법을 제공한다. 펩티바디 또는 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 발현 벡터에 삽입될 수 있고, 이는 다시 본 발명의 결합체를 제조하기 위한 숙주 세포에 삽입될 수 있다. 본 발명의 예시적 펩티바디의 제조는 하기 실시예 2에 기술된다.

[0267] 본 발명의 펩티드 및 펩티바디를 제조하기 위하여 다양한 발현 벡터/숙주 시스템이 이용될 수 있다. 이들 시스템은 재조합 박테리오파지, 플라스미드 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 세균과 같은 미생물; 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모; 바이러스 발현 벡터 (예: 바콜로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 바이러스 발현 벡터 (예: 콜리플라워 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 트랜스펙션되거나 또는 세균 발현 벡터 (예: Ti 또는 pBR322 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 동물 세포 시스템을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 한 바람직한 숙주 세포주는 실시예 2에서 하기 기술된 바와 같은 펩티바디의 발현에 사용된, 대장균 균주 2596 (ATCC 번호 202174)이다. 재조합 단백질 생산에 유용한 포유동물 세포는 VERO 세포, HeLa 세포, 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포주, COS 세포 (예: COS-7), W138, BHK, HepG2, 3T3, RIN, MDCK, A549, PC12, K562 및 293 세포를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0268] "발현 벡터"라는 용어는 폴리뉴클레오타이드 서열로부터 폴리펩티드를 발현하기 위한, 플라스미드, 파지, 바이러스 또는 벡터를 지칭한다. 발현 벡터는 (1) 유전자 발현에 조절 역할을 갖는 유전적 요소 또는 요소들(예: 프로모터 또는 인핸서), (2) mRNA로 전사되고 단백질로 해독되는 결합체를 코딩하는 구조 또는 서열 및 (3) 적합한 전사 개시 및 종결 서열의 집합을 포함하는 전사 단위를 포함할 수 있다. 효모 또는 진핵 발현 시스템에서의 사용을 목적으로 하는 구조 단위는 바람직하게는 숙주 세포에 의해 해독된 단백질의 세포외 분비를 가능하게 하는 리더 서열을 포함한다. 별법으로, 재조합 단백질이 리더 또는 운반 서열없이 발현되는 경우, 이는 아미노 말단 메티오닐 잔기를 포함할 수 있다. 상기 잔기는 최종 펩티드 생성물을 제공하기 위하여 발현된 후속적으로 재조합 단백질로부터 절단되거나 되지않을 수 있다.

[0269] 예를 들면, 펩티드 및 펩티바디는 상업적으로 입수가 가능한 발현 시스템 (예: 피키아(Pichia) 발현 시스템 - Invitrogen, San Francisco, CA)를 이용하여 제조자의 지시사항에 따라서 효모에서 재조합 발현될 수 있다. 상

기 시스템은 또한 분비를 지배하는 프리-프로-알파 서열에 의존하나, 삼입물의 전사는 메탄올 유도에 의해서 알콜 옥시다제(AOX1) 프로모터에 의해 작동된다. 분비된 펩티드는 세균 및 포유동물 세포 상층액으로부터 펩티드를 정제하기 위해 이용되는 방법을 이용하여 효모 성장 배지로부터 정제된다.

[0270] 별법으로, 펩티드 및 펩티바디를 코딩하는 cDNA는 바콜로바이러스 발현 벡터 pVL1393 (PharMingen, San Diego, CA)로 클로닝될 수 있다. 이 벡터는 제조자의 지시사항(PharMingen)에 따라서 이용되어 sF9 무단백질 배지에서 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포를 감염시키고, 재조합 단백질을 생산할 수 있다. 재조합 단백질은 해파린-세파로즈 칼럼 (Pharmacia)를 이용하여 매질로부터 정제되고 농축될 수 있다.

[0271] 별법으로, 펩티드 또는 펩티바디는 곤충 시스템에서 발현될 수 있다. 단백질 발현을 위한 곤충 시스템은 당업계에 공지되어 있다. 한 이러한 시스템에서, 오토그래파 캘리포니아 핵 폴리헤드로시스 바이러스(*Autographa californica nuclear polyhedrosis virus*; AcNPV)가 스포도프테라 프루기페르다 세포에서 또는 트리코플루시아 라바에(*Trichoplusia larvae*)에서 외래 유전자를 발현하기 위한 벡터로 이용될 수 있다. 펩티드 코딩 서열은 폴리헤드린 유전자와 같은 바이러스의 비필수 영역으로 클로닝되고, 폴리헤드린 프로모터의 조절하에 놓일 수 있다. 펩티드의 성공적인 삼입은 폴리헤드린 유전자를 불활성화시키고, 외피 단백질 코팅이 걸려된 재조합 바이러스를 생성한다. 재조합 바이러스를 이용하여 펩티드가 발현되는 에스. 프루기페르다(*S. frugiperda*) 세포 또는 트리코플루시아 라바에를 감염시킬 수 있다 (Smith 등, *J Virol* 46: 584 (1983); Engelhard 등, *Proc Nat Acad Sci (USA)* 91:3224-7 (1994)).

[0272] 다른 예에서, 펩티드를 코딩하는 DNA 서열은 PCR에 의해 증폭되고, 적합한 벡터, 예를 들면 pGEX-3X (Pharmacia)로 클로닝될 수 있다. pGEX 벡터는 벡터에 의해 코딩되는 글루타티온-S-트랜스퍼라제 (GST), 및 벡터의 클로닝 부위로 삼입된 DNA 단편에 의해 코딩되는 단백질을 포함하는 융합 단백질을 생산하도록 고안된다. PCR용 프라이머는 예를 들면, 적합 절단 부위를 포함하도록 생성될 수 있다. 융합 부분이 발현을 촉진하기 위하여 단독으로 이용되거나, 또는 달리 목적 펩티드의 부착물로서 바람직하지 않는 경우, 재조합 융합 단백질은 융합 단백질의 GST 부분으로부터 절단될 수 있다. pGEX-3X/특이적 결합체 펩티드 구조물은 대장균 XL-1 블루 세포 (Stratagene, La Jolla CA)로 형질전환되고, 개별 형질전환체가 단리되고 성장된다. 개별 형질전환체로부터의 플라스미드 DNA는 정제되고 자동화 서열분석기를 이용하여 서열분석되어 적합한 배열로 요망되는 특정 결합체 코딩 핵산 삼입물의 존재를 확인할 수 있다.

[0273] 세균에서 불용성 봉입체(inclusion body)로 생산될 수 있는 융합 단백질은 다음과 같이 정제될 수 있다. 숙주 세포는 원심분리에 의해 수집되고, 0.15 M NaCl, 10 mM Tris, pH 8, 1 mM EDTA에서 세척하고, 0.1 mg/ml 리소자임 (Sigma, St. Louis, MO)으로 15 분 동안 실온에서 처리한다. 용해물은 초음파분해로 처리하고, 세포 파편은 원심분리에 의해 10 분 동안 12,000 X g에서 펠렛팅될 수 있다. 융합 단백질 함유 펠렛은 50 mM Tris, pH 8 및 10 mM EDTA 중에 재현탁되고, 50% 글리세롤 상에 적층하고, 30 분 동안 6000 X g에서 원심분리할 수 있다. 펠렛은 Mg⁺⁺ 및 Ca⁺⁺가 없는 표준 포스페이트 완충 식염수 용액 (PBS) 중에 재현탁될 수 있다. 융합 단백질은 추가로 재현탁액 펠렛을 변성 SDS-PAGE에서 분별에 의해 정제될 수 있다 (Sambrook 등, 상기 문헌). 겔은 0.4 M KCl 중에 적서서 단백질을 시각화하고, 이는 SDS가 없는 겔-유출 완충액 중에서 절제되고 전기분리될 수 있다. GST/융합 단백질이 세균에서 가용성 단백질로 생산되는 경우, 이는 GST 정제 모듈(GST Purification Module; Pharmacia)를 이용하여 정제될 수 있다.

[0274] 융합 단백질은 소화를 받아서 본 발명의 펩티드로부터 GST를 절단할 수 있다. 소화 반응 (20-40 mg 융합 단백질, 20-30 단위 인간 트롬빈 (4000 U/mg, Sigma), 0.5 mg PBS 중)은 16-48 시간 동안 실온에서 항온처리되고, 변성 SDS-PAGE 겔 상에 로딩하여 반응 생성물을 분리할 수 있다. 겔은 0.4 M KCl 중에 적서서 단백질 밴드를 시각화할 수 있다. 예상 분자량의 펩티드에 상응하는 단백질 밴드의 동정은 자동 서열분석기 (Applied Biosystems Model 473A, Foster City, CA)를 이용하여 아미노산 서열 분석에 의해 확인될 수 있다. 별법으로, 동정은 펩티드의 HPLC 및(또는) 질량 분광분석을 수행하는 것에 확인될 수 있다.

[0275] 별법으로, 펩티드를 코딩하는 DNA 서열은 요망되는 프로모터 및 임의로 리더 서열을 함유하는 플라스미드로 클로닝될 수 있다(Better 등, *Science* 240:1041-43 (1998)). 본 구조물의 서열은 자동 서열분석에 의해 확인될 수 있다. 이어서, 플라스미드는 CaCl₂ 항온처리 및 세균의 열 쇼크 처리를 이용하는 표준 과정을 이용하여 대장균 균주 MC1061로 형질전환될 수 있다(Sambrook 등, 상기 문헌). 형질전환된 세균은 카르베니실린이 보충된 LB 매질에서 성장될 수 있고, 발현된 단백질의 생산은 적당한 매질 중에서의 성장에 의해 유도될 수 있다. 존재하는 경우, 리더 서열은 펩티드의 분비에 영향을 주고, 분비 도중 절단될 수 있다.

[0276] 재조합 펩티드 및 펩티바디의 발현을 위한 포유동물 숙주 시스템은 당업자들에게 공지되어 있다. 숙주 세포 균

주는 발현된 단백질을 가공하거나 또는 단백질 활성을 제공하는데 유용할 수 있는 특정 해독후 변형을 생성하기 위하여 특정 능력에 대하여 선정될 수 있다. 이러한 펩티드의 변형은 아세틸화, 카르복실화, 글리코실화, 포스포릴화, 리피드화 및 아실화를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. CHO, HeLa, MDCK, 293, WI38 등과 같은 상이한 숙주 세포는 특이적 세포 기구 및 특징적인 후해독 활성 기전을 가지고, 도입된 외래 단백질의 정확한 변형 및 가공을 보장하도록 선정될 수 있다.

[0277] 형질전환된 세포가 장기간의 고수율 단백질 생산을 위하여 이용되는 것이 바람직하다. 이러한 세포가 선택가능한 마커 뿐만 아니라 요망되는 발현 카세트에 함유하는 벡터로 형질전환되면, 세포는 선택 매질로 전환되기에 앞서 1-2 일 동안 보강 매질 중에서 성장되도록 할 수 있다. 선택가능한 마커는 도입된 서열을 성공적으로 발현하는 세포의 성장 및 회수를 가능하게 하도록 고안된다. 안정적으로 형질전환된 세포의 내성 군집은 이용된 세포주에 적합한 조직 배양 기술을 이용하여 증식될 수 있다.

[0278] 다수의 선택 시스템을 이용하여 재조합 단백질 생산용으로 형질전환된 세포를 회수할 수 있다. 이러한 선택 시스템은 HSV 티미딘 키나제, 하이포크산틴-구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제 유전자 (각각 tk-, hgppt- 또는 appt-세포 중에서)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 또한, 항-대사물 내성이 메톡트렉세이트에 대한 내성을 부여하는 dhfr; 미코페놀산에 대한 내성을 부여하는 gpt; 아미노글리코시드 G418에 대한 내성을 부여하고 클로르수론프론에 대한 내성을 부여하는 neo; 및 히그로마이신에 대한 내성을 부여하는 hygro에 대한 선택 기준으로 이용될 수 있다. 이용될 수 있는 추가의 선택가능한 유전자는 세포가 트립토판 대신 인돌을 이용하게 하는 trpB, 또는 세포가 히스티딘 대신 히스티놀을 이용하게 하는 hisD를 포함한다. 형질전환체의 동정을 위한 시각적 지표를 제공하는 마커는 안토시아닌, β -글루쿠로니다제 및 이의 기질인 GUS 및 루시페라제 및 이의 기질인 루시페린을 포함한다.

[0279] **결합체의 정제 및 재접힘**

[0280] 일부 경우, 본 발명의 펩티드 및(또는) 펩티바디와 같은 결합체는 생물학적으로 활성이기 위하여 적합한 3차 구조 및 디설피드 결합을 형성하도록 "재접힘"되고 산화될 수 있다. 재접힘(refolding)은 당업계에 공지된 다수의 방법을 이용하여 수행될 수 있다. 이러한 방법은 예를 들면, 가용성 폴리펩티드제를 카오트로픽제의 존재하에서 통상적으로 7보다 높은 pH에 노출하는 것을 포함한다. 카오트로프(chaotrope)는 봉입체(inclusion body) 가용화에 이용되는 선택물과 유사하나, 카오트로프는 통상적으로 더 낮은 농도에서 사용된다. 카오트로픽제의 예로는 구아니딘 및 우레아를 들 수 있다. 대부분의 경우, 재접힘/산화 용액은 또한 환원제 + 이의 산화된 형태를 특이적 비로 함유하여 특정 산화환원 포텐셜을 생성하고, 이는 시스테인 브릿지의 형성을 위하여 일어나는 디설피드 서플링을 가능하게 한다. 일부 통상적으로 이용되는 산화환원 쌍은 시스테인/시스테인, 글루타티온/디티오비스GSH, 염화구리, 디티오프레이톨 DTT/디티안 DTT 및 2-메르캅토에탄올 (bME)/디티오-bME를 포함한다. 많은 경우, 재접힘의 효율을 증가시키기 위하여 공용매가 이용될 수 있다. 통상적으로 이용되는 공용매는 글리세롤, 다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜 및 아르기닌을 포함한다.

[0281] 본 발명의 펩티드 및 펩티바디를 정제하는 것이 요망될 수 있다. 단백질 정제 기술은 당업계에 공지되어 있다. 이들 기술은 일 수준에서 단백질 및 비단백성 분획의 조 분류를 포함한다. 다른 단백질로부터 분리된 펩티드 및(또는) 펩티바디를 갖는, 목적하는 펩티드 또는 펩티바디는 크로마토그래피 및 전기영동 기술을 이용하여 더 정제되어 부분적 또는 완전 정제 (또는 균질성으로 정제)를 달성할 수 있다. 본 발명의 펩티바디 및 펩티드의 제조에 특히 적합한 분석적 방법은 이온 교환 크로마토그래피, 제거 크로마토그래피, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동법, 등전 포커싱이다. 펩티드를 정제하는 특히 효율적인 방법은 급속 단백질 액체 크로마토그래피 또는 나아가 HPLC이다.

[0282] 본 발명의 특정 측면은 정제이고, 구체적 실시태양에서, 본 발명의 펩티바디 또는 펩티드의 실질적 정제이다. 본원에서 사용된 용어 "정제된 펩티바디 또는 펩티드"는 다른 성분으로부터 분리가능한 조성물을 지칭하는 것으로 의도되고, 여기서 펩티바디 또는 펩티드는 천연적으로 얻을 수 있는 상태에 대하여 임의의 정도로 정제된다. 따라서, 정제된 펩티드 또는 펩티바디는 또한 천연 발생될 수 있는 환경에는 존재하지 않는 펩티바디 또는 펩티드를 지칭한다.

[0283] 일반적으로, "정제된"은 다양한 다른 성분을 제거하기 위하여 분별된 펩티드 또는 펩티바디 조성물을 지칭할 수 있고, 이러한 조성물은 실질적으로 발현된 생물학적 활성을 보유한다. 용어 "실질적으로 정제된"이 사용되는 경우, 이러한 명칭은 펩티바디 또는 펩티드가 조성물 중 단백질의 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95% 또는 그 이상을 구성하는 등의 조성물의 주요 성분을 형성하는 펩티드 또는 펩티바디 조성물을 지칭한다.

- [0284] 펩티드 또는 펩티바디의 정제도를 정량하는 다양한 방법이 본원의 개시사항의 관점에서 당업계에 공지되어 있을 수 있다. 이는 예를 들면, 활성 분획의 특이적 결합 활성을 측정하거나, 또는 SDS/PAGE 분석에 의해 분획 내의 펩티드 또는 펩티바디의 양을 평가하는 것을 포함한다. 펩티드 또는 펩티바디 분획의 순도를 평가하기 위한 바람직한 방법은 분획의 결합 활성을 계산하고, 이를 초기 추출물의 결합 활성과 비교하고, 따라서 본원에서 "-배 정제"로 평가되는 정제도를 계산하는 것이다. 결합 활성의 양을 나타내기 위해 사용된 실제 단위는 물론 정제 후에 선택된 특정 분석 기술, 및 펩티바디 또는 펩티드가 검출가능한 결합 활성을 나타내거나 나타내지 않는지 여부에 의존할 수 있다.
- [0285] 정제에 사용되기에 적합한 다양한 기술이 당업계에 공지되어 있다. 이는 예를 들면, 암모늄 술페이트, PEG, 항체 (면역침강) 등을 이용한 침강 또는 열 변성 및 이어서 원심분리; 친화도 크로마토그래피 (예: 단백질-A-세파로즈), 이온 교환, 겔 여과, 역상, 히드록시아파타이트 및 친화도 크로마토그래피와 같은 크로마토그래피 단계; 등전 포커싱; 겔 전기영동; 및 이들 및 다른 기술의 조합을 포함한다. 당업계에 일반적으로 공지된 바와 같이, 다양한 정제 단계를 수행하는 순서는 변화될 수 있거나, 특정 단계가 생략되고, 여전히 실질적으로 정제된 결합제의 제조에 적합한 방법을 가져올 수 있는 것으로 여겨진다.
- [0286] 본 발명의 결합제가 항상 가장 정제된 상태로 제공된다는 일반적 요구사항은 존재하지 않는다. 실제, 덜 실질적으로 정제된 결합제 생성물이 특정 실시태양에서 유용성을 가질 수 있는 것으로 예상된다. 부분 정제는 더 적은 정제 단계를 조합하여 이용하는 것에 의해, 또는 상이한 형태의 동일한 일반적 정제 계획을 이용하는 것에 의해 달성될 수 있다. 예를 들면, HPLC 장치를 이용하여 수행되는 양이온-교환 칼럼 크로마토그래피는 일반적으로 저압 크로마토그래피 시스템을 이용하는 동일한 기술보다 더 큰 "-배"의 정제라는 결과를 가져올 수 있는 것으로 이해된다. 더 낮은 정도의 상대적 정제를 나타내는 방법은 펩티드 또는 펩티바디의 총 회수에서, 또는 펩티드 또는 펩티바디의 결합 활성을 유지하는 것에서 잇점을 가질 수 있다.
- [0287] 펩티드 또는 펩티바디의 이동은 (일부 경우 유의하게) 상이한 조건의 SDS/PAGE에서 달라질 수 있음이 공지되어 있다 (Capaldi 등, Biochem Biophys Res Comm, 76:425 (1977)). 따라서, 차등화 전기영동 조건하에서, 정제된 또는 부분 정제된 결합제 발현 생성물의 겔보기 분자량이 달라질 수 있는 것으로 이해될 것이다.
- [0288] **미오스타틴 결합제의 활성**
- [0289] 본 발명의 결합제의 구성 후, 이들은 미오스타틴에 결합하고, 미오스타틴 활성을 억제 또는 봉쇄하는 능력을 시험한다. 미오스타틴 활성을 억제 또는 봉쇄하는 상기 제제의 능력을 결정하기 위하여 임의의 수의 분석 또는 동물 시험을 이용할 수 있다. 본 발명의 펩티드 및 펩티바디를 특성화하기 위해 이용되는 여러 분석이 하기 실시예에 기술되어 있다. 한 분석은 C2C12 pMARE-luc 분석이고, 이는 미오스타틴/액티빈 반응 요소 (myostatin/activin response elements; MARE)를 함유하는 루시퍼라제 리포터 벡터로 형질감염된 미오스타틴-반응성 세포주 (C2C12 미오블라스트)를 이용한다. 예시적 펩티바디는 미오스타틴으로 일련의 펩티바디 회색물을 미리 항온처리하고, 이어서 세포를 항온처리 혼합물을 노출하는 것에 의해 분석된다. 얻은 루시퍼라제 활성을 측정하고, 적정 커브를 일련의 펩티바디 회색물로부터 산출한다. 이어서, IC_{50} (루시퍼라제 활성에 의해 측정되는 미오스타틴 활성의 50% 억제를 달성하는 펩티바디의 농도)를 결정한다. 하기 기술된 제2 분석은 미오스타틴 결합제에 대한 속도 파라미터 k_a (결합 속도 상수), k_d (해리 속도 상수) 및 K_D (해리 평형 상수)를 측정하기 위한 비아코어(등록상표)이다. 더 낮은 해리 평형 상수 (K_D , nM로 표현됨)는 미오스타틴에 대한 펩티바디의 더 큰 친화력을 나타낸다. 추가 분석은 펩티바디와 같은 결합제가 중화성 (미오스타틴의 그 수용체에 대한 결합을 억제) 또는 비중화성 (미오스타틴의 그 수용체에 대한 결합을 억제하지 않음)인지 여부를 측정하는 봉쇄 분석; 본 발명의 결합제가 다른 TGF β 패밀리 멤버가 아닌 미오스타틴에 선택적으로 결합하는지를 측정하는 선택성 분석; 및 또한 K_D 를 측정하고 일부 상황에서 더욱 선택성이라고 여겨지는 용액-기체 평형 분석 또는 킨엑스 ATM이다. 이들 분석은 실시예 3에 기술되어 있다.
- [0290] 도 1은 펩티드의 IC_{50} 을 펩티드로부터의 펩티바디의 IC_{50} 과 비교하여 보여주고 있다. 이는 펩티드 단독일 때보다 펩티바디가 미오스타틴 활성을 저해하는데 훨씬 더 효과적임을 입증해 주고 있다. 또한, 친화력-성숙된 펩티바디는 통상적으로 부모 펩티드 및 펩티바디에 비해 개선된 IC_{50} 및 K_D 수치를 나타낸다. 다수의 대표적인 친화력-성숙된 펩티바디에 대한 IC_{50} 수치는 하기 표 7, 실시예 7에 나타났다. 또한, 일부 경우에는 2개의 펩티드가 직렬로 결합된 2x 구조의 펩티바디를 제조하는 것이, 시험관내 및 생체내 모두에서 펩티바디의 활성을 증가시킨다.

- [0291] 생체내 활성은 이하 실시예에서 입증된다. 결합제의 활성은 동물 모델에서 제지방 근육량을 증가시키고, 뿐만 아니라 처리된 동물 모델에서 총 체중에 대한 지방 질량을 감소시키며, 동물 모델에서 근력을 증가시키는 동화 활성을 포함한다.
- [0292] **미오스타틴 결합제의 용도**
- [0293] 본 발명의 미오스타틴 결합제는 미오스타틴에 결합하고, 표적 세포 내에서의 미오스타틴 신호전달을 차단 또는 저해한다. 본 발명은 하나 이상의 미오스타틴 결합제의 유효 용량을 동물에게 투여함으로써, 동물에서 미오스타틴의 양 또는 활성을 감소시키는 방법 및 시약을 제공한다. 한 면에서, 본 발명은 하나 이상의 결합제의 유효 용량을 동물에게 투여하는 것을 포함하는, 동물의 미오스타틴-관련 질환을 치료하기 위한 방법 및 시약을 제공한다. 이러한 미오스타틴-관련 질환은 다양한 형태의 근육 소모증, 뿐만 아니라 대사장애, 예를 들어 당뇨병 및 관련 질환, 및 골다공증과 같은 골 퇴행성 질병을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.
- [0294] 하기 실시예 8에 나타난 바와 같이, 본 발명의 대표적인 펩티바디는 CD1 nu/nu 마우스 모델에서 제지방 근육량을 현저하게 증가시킨다. 이러한 생체내 활성은 동일한 펩티바디에 대해 하기 기술하는 시험관내 결합 및 저해 활성과 상호관련된다.
- [0295] 근육 소모증은 이영양증, 예를 들어 듀시엔형(Duchenne) 근이영양증, 진행성 근이영양증, 벡커형 근이영양증, 데제린-란도우지 (Dejerine-Landouzy) 근이영양증, Erb 근이영양증 및 유아 뉴로엑손 근이영양증을 포함한다. 예를 들어, 항체를 사용하여 생체내에서 미오스타틴을 차단한 결과, 듀시엔형 근이영양증의 *mdx* 마우스 모델의 이영양증성 표현형이 개선되었다 (Bogdanovich 등, *Nature* **420**, 28 (2002)). 본 발명의 펩티바디는 노령의 *mdx* 마우스 모델에게 투여시, 체중의 백분율로서 제지방 근육량을 증가시키고 체중의 백분율로서 지방 질량을 감소시킨다.
- [0296] 추가적인 근육 소모증은 만성 질병, 예를 들어 근위축성 측삭 경화증, 울혈성 폐쇄성 폐질환, 암, AIDS, 신부전 및 류마티스성 관절염으로부터 야기된다. 예를 들어, 흉선을 제거한 누드 마우스에게 미오스타틴을 전신적으로 투여했을 때 악액질 또는 근육 소모 및 체중 감소가 유도되었다 (Zimmers 등, *supra*). 다른 예에서, 미오스타틴-면역반응성 단백질의 혈청 및 근육내 농도는 AIDS-관련 근육 소모증을 나타내는 남성에게서 증가하는 것으로 밝혀졌고, 제지방 질량과는 역관계였다 (Gonzalez-Cadavid 등, *PNAS USA* **95**:14938-14943 (1998)). 근육 소모증을 야기하는 추가적인 증상들은 장애, 예를 들어 휠체어 사용, 뇌졸중, 질병, 척수 손상, 골절 또는 외상으로 인한 장기간의 침상안정, 및 미소중력 환경 (우주 비행)에서의 근위축증으로 인한 활동불능으로부터 발생할 수 있다. 예를 들어, 혈장 미오스타틴 면역반응성 단백질은 장기간의 침상안정 후 증가하는 것으로 밝혀졌다 (Zachwieja 등 *J Gravit Physiol.* **6**(2):11 (1999)). 또한, 우주 왕복선 비행 동안의 미소중력 환경에 노출된 래트의 근육은, 노출되지 않은 래트의 근육에 비해 미오스타틴의 양이 증가된 것으로 밝혀졌다 (Lalani 등, *J. Endocrin* **167** (3):417-28 (2000)).
- [0297] 또한, 나이와 관련된 지방 대 근육 비율의 증가, 및 나이와 관련된 근위축증은 미오스타틴과 관련되는 것으로 생각된다. 예를 들어, 평균 혈청 미오스타틴-면역반응성 단백질은 젊은 (19-35세 연령), 중년 (36-75세 연령), 및 노인 (76-92세 연령) 남성 및 여성 그룹에서 나이에 따라 증가한 반면, 이 그룹들에서 평균 근육 질량 및 제지방 (fat-free) 질량은 나이에 따라 감소했다 (Yarasheski 등 *J Nutr Aging* **6**(5):343-8 (2002)). 또한, 마우스에서 미오스타틴 유전자를 녹아웃시키면 근육 발생이 증가하고 지방 생성이 감소하여 (Lin 등, *Biochem Biophys Res Commun* **291**(3):701-6 (2002)), 성인에게서 근육 질량은 증가하고 지방 축적 및 랩틴 분비는 감소하는 것으로 나타났다. 대표적인 펩티바디는 하기 나타내는 바와 같이, 노령의 *mdx* 마우스에서 제지방 근육량 대 지방의 비율을 개선시킨다.
- [0298] 또한, 미오스타틴은 심장 근육에서는 낮은 수준으로 발현되는데 경색 후 심근세포에서는 상향조절되는 것으로 현재 밝혀졌다 (Sharma 등, *J Cell Physiol.* **180** (1):1-9 (1999)). 따라서, 심장 근육에서 미오스타틴 수준을 감소시켜 경색 후 심장 근육의 회복을 개선시킬 수 있다.
- [0299] 미오스타틴은 또한, 2형 당뇨병, 비인슐린-의존성 당뇨병, 고혈당증 및 비만증증을 비롯한 대사장애에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 예를 들어, 미오스타틴 결핍은 2종의 마우스 모델에서 비만증과 당뇨병성 표현형을 개선시키는 것으로 입증되었다 (Yen 등 *supra*). 하기 실시예에서는, 본 발명의 저해제를 투여하여 미오스타틴 활성을 감소시키면 노령의 동물 모델을 비롯한 동물에서 지방 대 근육 비율을 감소시킬 수 있다는 것이 입증되었다. 따라서, 본 발명의 저해제를 투여하여 지방 조성을 감소시키면 동물의 당뇨병, 비만증 및 고혈당 증상을 개선시킬 것이다.

- [0300] 또한, 미오스타틴 수준을 감소시켜 근육 질량을 증가시키면 골 강도를 향상시킬 수 있고, 골다공증 및 기타 퇴행성 골질환을 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 미오스타틴-결핍 마우스는 마우스 상완골에서 무기물의 함량 및 밀도의 증가, 및 근육이 붙어있는 영역의 소주골 및 피질골 모두에서 무기물 함량의 증가, 뿐만 아니라 근육 질량의 증가를 나타내는 것으로 밝혀졌다 (Hamrick 등 *Calcif Tissue Int* **71**(1):63-8 (2002)).
- [0301] 본 발명은 또한, 유효 용량의 미오스타틴 결합제를 동물에게 투여하여 식용 동물의 근육 질량을 증가시키기 위한 방법 및 시약을 제공한다. 성숙한 C-말단 미오스타틴 폴리펩티드는 시험한 모든 종에서 동일하므로, 미오스타틴 결합제는 소, 닭, 칠면조 및 돼지를 비롯하여 농업적으로 중요한 임의의 종에서 근육 질량을 증가시키고 지방을 감소시키는데 효과적인 것으로 예상된다.
- [0302] 본 발명의 결합제는 단독으로 사용되거나, 그의 치료적 효과를 향상시키거나 잠재적인 부작용을 감소시키기 위한 기타 치료제와 함께 사용될 수 있다. 본 발명의 결합제는 약제의 치료적 가치를 증진시키기 위한 하나 이상의 바람직하지만 예상치 못했던 성질들을 함께 가지고 있다. 이러한 성질에는 활성 증가, 용해도 증가, 분해 감소, 반감기 증가, 독성의 감소, 및 면역원성의 감소가 포함된다. 따라서, 본 발명의 결합제는 치료 양생법의 연장에도 유용하다. 또한, 본 발명의 화합물은 친수성 및 소수성 성질이 잘 균형을 이루고 있어, 시험관내 용도 및 특히 생체내 용도 모두에 대한 유용성을 증진시킨다. 구체적으로, 본 발명의 화합물은 신체 내에서 흡수되고 생체에서 이용 가능하도록 하는 적절한 정도의 수성 매질내 용해도를 가지면서, 화합물이 세포막을 통과해 추정되는 작용 부위, 예를 들어 특정 근육 집단으로 들어가도록 할 수 있는 일정 정도의 지질내 용해도도 가진다.
- [0303] 본 발명의 결합제는 적합한 조성물 내에서 유효 용량으로 투여될 경우, 인간을 비롯한 "개체" 또는 임의의 동물을 치료하는데 유용하다.
- [0304] 또한, 본 발명의 미오스타틴 결합제는 다수의 분석법에서 미오스타틴을 검출하고 정량하는데 유용하다. 이러한 분석법은 이하 상세하게 기술한다.
- [0305] 통상적으로, 본 발명의 결합제는 예를 들어 문헌 [Asai, ed., *Methods in Cell Biology*, **37**, *Antibodies in Cell Biology*, Academic Press, Inc., New York (1993)]에 기술된 바와 유사하게, 다양한 분석법에서 미오스타틴에 결합하고 이를 고정화하는 포획제로서 유용하다. 결합제는 몇몇 방식으로 표지될 수 있고, 또는 표지된 항-결합제 항체와 같은 제3의 분자와 반응하여 미오스타틴이 검출 및 정량되도록 할 수 있다. 예를 들어, 결합제 또는 제3 분자는 검출가능한 잔기, 예를 들어 비오틴으로 개질될 수 있고, 이어서 제4의 분자, 예를 들어 효소-표지된 스트렙트아비딘, 또는 기타 단백질에 결합될 수 있다 (Akerstrom, *J Immunol* **135**:2589 (1985); Chaubert, *Mod Pathol* **10**:585 (1997)).
- [0306] 임의의 특정 분석법의 전 과정에서, 시약 각각의 배합 이후에 항온처리 및(또는) 세척 단계가 필요할 수 있다. 항온처리 단계는 약 5초 부터 수 시간, 바람직하게는 약 5분 부터 약 24시간까지 변화할 수 있다. 그러나, 항온처리 시간은 분석의 형식, 용액의 질량, 농도 등에 따라 좌우될 것이다. 통상적으로, 분석법은 일정 온도 범위에 걸쳐 수행될 수 있지만 상온에서 수행될 것이다.
- [0307] 비경쟁적 결합 분석법:
- [0308] 결합 분석법은 포획된 미오스타틴의 양을 직접적으로 측정하는 비경쟁적 형태일 수 있다. 예를 들어, 하나의 바람직한 "샌드위치" 분석법에서, 결합제는 고정화된 곳에서 고체 기질에 직접적으로 결합될 수 있다. 그 다음, 이러한 고정화된 약제는 시험 시료 내에 존재하는 미오스타틴에 결합한다. 그 다음, 고정화된 미오스타틴은 표지제, 예를 들어 미오스타틴에 대한 표지된 항체에 결합되고, 이를 검출할 수 있다. 다른 바람직한 "샌드위치" 분석법에서, 비오틴과 같은 검출가능한 잔기를 포함하는 결합제에 특이적인 제2 시약이 첨가될 수 있고, 여기에 제3의 표지된 분자, 예를 들어 스트렙트아비딘이 특이적으로 결합할 수 있다 (문헌 [Harlow and Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Ch 14, *Cold Spring Harbor Laboratory*, NY (1988)]을 참조하고, 이는 본원에 참고자료로 포함된다).
- [0309] 경쟁적 결합 분석법:
- [0310] 결합 분석법은 경쟁적 형태일 수 있다. 시료 내에 존재하는 미오스타틴의 양은, 시료 내에 존재하는 미오스타틴에 의해 결합제로부터 대체된 또는 경쟁적 배제된 미오스타틴의 양을 간접적으로 측정함으로써 측정된다. 하나의 바람직한 경쟁적 결합 분석법에서는, 통상적으로 표지된 공지량의 미오스타틴을 시료에 첨가하고, 그 다음 시료를 결합제와 접촉시킨다. 결합제에 결합된 표지된 미오스타틴의 양은, 시료 내에 존재하는 미오스타틴의

농도에 반비례한다 (예를 들어, 문헌 [Harlow and Lane, Antibodies, *A Laboratory Manual*, Ch 14, pp. 579-583, *supra*]에 기재된 프로토콜을 따름).

[0311] 다른 바람직한 경쟁적 결합 분석법에서, 결합제는 고체 기질 상에 고정화된다. 결합제에 결합된 미오스타틴의 양은 미오스타틴/결합제 복합체 내에 존재하는 미오스타틴의 양을 측정하거나, 별법으로 복합체화되지 않은 잔류 미오스타틴 양을 측정함으로써 결정될 수 있다.

[0312] 기타 결합 분석법

[0313] 본 발명은 또한, 시료 내에 존재하는 미오스타틴을 검출 또는 정량화하기 위한 웨스턴 블롯 방법을 제공한다. 이 기술은 일반적으로 시료 단백질을 분자량에 기초하여 겔 전기영동으로 분리하고, 단백질을 적합한 고체 지지체, 예를 들어 니트로셀룰로스 필터, 나일론 필터 또는 유도체화된 나일론 필터로 전달하는 것을 포함한다. 시료는 미오스타틴에 결합하는 결합제 또는 그의 단편과 항온처리되고, 그 결과 생성된 복합체를 검출한다. 상기 결합제는 직접적으로 표지되거나, 아니면 결합제에 특이적으로 결합하는 표지된 항체를 사용하여 후속적으로 검출할 수 있다.

[0314] 진단 분석법

[0315] 본 발명의 결합제 또는 그의 단편은 미오스타틴 양의 증가를 특징으로 하는 증상 또는 질병의 진단에 유용할 수 있다. 높은 수준의 미오스타틴에 대한 진단 분석법은 인간의 체액, 세포 추출물 또는 특정 조직 추출물에서 미오스타틴을 검출하기 위한 표지 및 결합제를 사용하는 방법을 포함한다. 예를 들어 문헌 [Yarasheski 등, *supra*]에 기술된 바와 같이, 노화 또는 활동불능과 관련된 근육 소모증의 발병을 판단하기 위해 시간 경과에 따른 개체의 미오스타틴 혈청 농도를 측정할 수 있다. 미오스타틴 수준의 증가는 나이가 증가하는 남성 및 여성 그룹에서 감소한 근육 질량 및 제지방 질량의 평균과 상호관련되는 것으로 나타났다 (Yarasheski 등, *supra*). 본 발명의 결합제는 예를 들어, 시간 경과에 따른 소정 개체의 미오스타틴 수준의 증가 또는 감소를 모니터링하는데 유용할 수 있다. 결합제는 상기 분석법을 변화시키거나 변화시키지 않고 사용할 수 있다. 바람직한 진단 분석법에서, 결합제는 예를 들어 표지 또는 리포터 분자를 결합시킴으로써 표지될 것이다. 매우 다양한 표지 및 리포터 분자가 알려져 있는데, 이 중 일부는 이미 본원에서 기술했다. 특히, 본 발명은 인간 질병의 진단에 유용하다.

[0316] 미오스타틴의 결합제를 사용하여 미오스타틴 단백질을 측정하는 다양한 프로토콜이 당 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 효소-결합 면역흡착 분석법 (ELISA), 방사성 면역분석법 (RIA) 및 형광 활성화 세포 분류 (FACS)가 포함된다.

[0317] 특정 실시태양에서는 진단 용도를 위해, 본 발명의 결합제를 통상적으로 검출가능한 잔기로 표지할 것이다. 검출가능한 잔기는 직접적 또는 간접적으로 검출가능한 신호를 생성할 수 있는 임의의 것이다. 예를 들어, 검출가능한 잔기는 방사성 동위원소, 예를 들어 ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S 또는 ^{125}I , 형광 또는 화학발광 화합물, 예를 들어 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민 또는 루시페린; 또는 효소, 예를 들어 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제 또는 호스레디쉬 퍼옥시다제일 수 있다 (Bayer 등, *Meth Enz*, **184**:138 (1990)).

[0318] 제약 조성물

[0319] 본원에 기술된 펩티마이드와 같은 미오스타틴 결합제의 제약 조성물은 본 발명의 영역에 포함된다. 상기 조성물은 제약학상 허용되는 약제와 혼합된 본원에 기술된 미오스타틴 결합제, 그의 단편, 변이체 또는 유도체를 치료적 또는 예방적 유효량으로 포함한다. 바람직한 실시태양에서, 제약 조성물은 제약학상 허용되는 약제와 함께 미오스타틴을 부분적으로 또는 완전하게 저해하는 길항제 결합제를 포함한다. 통상적으로, 미오스타틴 결합제는 동물에게 투여하기 위해 충분히 정제될 것이다.

[0320] 제약 조성물은 예를 들어 조성물의 pH, 삼투압, 점도, 투명도, 색상, 등장성, 냄새, 무균성, 안정성, 용해 또는 방출 속도, 흡착 또는 침투도를 변화, 유지 또는 보존하기 위한 제제화 물질을 포함할 수 있다. 적합한 제제화 물질은 아미노산 (예를 들어 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신); 항균제; 항산화제 (예를 들어 아스코르브산, 아황산나트륨 또는 아황산수소나트륨); 완충액 (예를 들어 붕산, 중탄산, 트리스-HCl, 시트르산, 인산, 기타 유기산); 별킹제 (예를 들어, 만니톨 또는 글리신), 킬레이트제 (예를 들어, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA)); 착화제 (예를 들어 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-시클로덱스트린 또는 히드록시프로필-베타-시클로덱스트린); 충전제; 단당류; 이당류, 및 기타 탄수화물 (예를 들어 글루코스, 만노스 또는

텍스트린); 단백질 (예를 들어 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린); 착색제; 향료 및 희석제; 유화제; 친수성 중합체 (예를 들어, 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩티드; 염-형성 반대이온 (예를 들어, 나트륨); 보존제 (예를 들어 염화 벤조알코늄, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸 알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산 또는 과산화수소); 용매 (예를 들어 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜); 당 알코올 (예를 들어, 만니톨 또는 솔비톨); 현탁제; 계면활성제 또는 습윤제 (예를 들어 플루로닉스, PEG, 솔비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 예를 들어 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 킬복사팔); 안정성 증강제 (수크로스 또는 솔비톨); 삼투성 증강제 (예를 들어, 알칼리 금속 할라이드 (바람직하게는, 염화나트륨 또는 염화칼륨, 만니톨, 솔비톨)); 전달 비히클; 희석제; 부형제 및(또는) 제약 보강제를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990).

[0321] 최적의 제약 조성물은 예를 들어, 목적하는 투여 경로, 전달 형식 및 원하는 용량에 따라 당업자가 결정할 것이다. 예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, supra] 참조. 상기 조성물은 물리적 상태, 안정성, 생체내 방출 속도, 및 결합제의 생체내 제거 속도에 영향을 미칠 수 있다.

[0322] 제약 조성물의 주요 비히클 또는 담체는 자연적으로 수성 또는 비수성일 수 있다. 예를 들어, 적합한 비히클 또는 담체는 주사를 위한 물, 생리 식염수 또는 인공 뇌척수액일 수 있고, 비경구 투여를 위한 기타 물질들을 조성물에 보충할 수도 있다. 혈청 알부민과 혼합된 혼합된 식염수 또는 중성의 완충 식염수도 추가의 대표적인 비히클이다. 기타 대표적인 제약 조성물은 pH 약 7.0-8.5의 트리스 완충액, 또는 pH 약 4.0-5.5의 아세이트 완충액을 포함하고, 이는 솔비톨 또는 그에 적합한 대체물을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 하나의 실시태양에서, 결합제 조성물은 저장을 위해, 목적하는 정도의 순도를 갖는 선택된 조성물을 임의의 제제화제 (Remington's Pharmaceutical Sciences, supra)와 혼합함으로써 동결건조된 케이크 또는 수용액 형태로 제조될 수 있다. 또한, 결합제 제품은 적절한 부형제, 예를 들어 수크로스를 사용하여 동결건조화물로서 제제화될 수 있다.

[0323] 제약 조성물은 비경구 전달을 위해 선택할 수 있다. 방법으로, 조성물은 흡입을 위해 또는 장관내로, 예를 들어 경구로, 귀로, 눈으로, 직장으로 또는 질내로 전달하기 위해 선택될 수 있다. 이와 같은 제약학상 허용되는 조성물은 당 분야의 기술범위에 속한다.

[0324] 제제화 성분은 투여 부위에서 허용되는 농도로 존재한다. 예를 들어, 완충액은 조성물을 생리학적 pH 또는 그 보다 약간 낮은 pH, 통상적으로는 약 5 내지 약 8의 pH 범위내로 유지하기 위해 사용된다.

[0325] 비경구 투여를 계획한다면, 본 발명에 사용하기 위한 치료적 조성물은 제약학상 허용되는 비히클 중에 목적하는 결합제를 포함하는, 무발열원의 비경구적으로 허용되는 수용액의 형태일 수 있다. 비경구 주사에 특히 적합한 비히클은 결합제가 멸균, 등장액으로 제제화되어 적절하게 보존되는 멸균 증류수이다. 또 다른 제제는 물질을 조절 또는 지속 방출하고 디포 (depot) 주입으로 전달될 수 있는 주사가능한 마이크로스피어, 생분해성 입자, 중합성 화합물 (폴리락트산, 폴리글리콜산), 비드 또는 리포솜과 같은 약제와 목적하는 분자의 제제를 포함할 수 있다. 히알루론산도 사용될 수 있는데, 이는 순환계에서의 지속적인 유지를 촉진하는 효과를 가질 수 있다. 목적 분자를 도입하기 위한 기타 적합한 수단은 이식가능한 약물 전달 장치를 포함한다.

[0326] 다른 면에서, 비경구 투여에 적합한 제약 제제는 수용액, 바람직하게는 생리학적으로 적합한 완충액, 예를 들어 행크스 (Hanks) 용액, 링거 용액, 또는 생리학적으로 완충된 식염수 중에서 제제화될 수 있다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 성분, 예를 들어 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 솔비톨 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 또한, 활성 화합물의 현탁액은 적절하다면 유성 주사 현탁액으로 제조될 수 있다. 적합한 친유성 용매 또는 비히클은 지방 오일, 예를 들어 세서미 오일, 또는 합성 지방산 에스테르, 예를 들어 에틸 올레에이트, 트리글리세라이드 또는 리포솜을 포함한다. 비-지질 다가 양이온성 아미노 중합체도 전달에 사용될 수 있다. 임의로, 현탁액은 적합한 안정화제, 또는 화합물의 용해도를 증가시키고 고농도 용액이 제조되도록 하는 시약을 포함할 수도 있다. 다른 실시태양에서, 제약 조성물은 흡입을 위해 제제화될 수 있다. 예를 들어, 결합제는 흡입하기 위한 건조 분말로서 제제화될 수 있다. 폴리펩티드 또는 핵산 분자 흡입 용액은 또한, 에어로졸 전달을 위한 추진제와 제제화될 수 있다. 또 다른 실시태양에서, 용액은 분무될 수 있다. PCT 출원 PCT/US94/001875에는 폐 투여가 추가로 기재되어 있는데, 여기서는 화학적으로 개질된 단백질의 폐 전달을 기술

하고 있다.

- [0327] 또한, 특정 제제는 경구로 전달될 수 있다는 점도 고려된다. 본 발명의 하나의 실시태양에서, 이러한 방식으로 투여되는 결합제 분자는 고체 용량 형태, 예를 들어 정제 및 캡슐의 배합에 통상적으로 사용되는 상기 담체들과 함께, 또는 담체없이 제제화될 수 있다. 예를 들어, 캡슐은 생체 이용율을 최대화 하고 전신전 분해 (pre-systemic degradation)를 최소화했을 때, 위장관 내의 지점에서 제제의 활성 부분이 방출되도록 설계될 수 있다. 추가적인 약제는 결합제 분자의 흡수를 촉진하기 위해 포함될 수 있다. 희석제, 향료, 저용점 왁스, 식물유, 윤활제, 현탁제, 정제 봉해제 및 결합제도 사용될 수 있다.
- [0328] 경구 투여를 위한 제약 조성물은 당 분야에 공지된 제약학상 허용되는 담체를 경구 투여에 적합한 용량으로 사용하여 제제화될 수도 있다. 이러한 담체는 제약 조성물이 환자가 삼키기 위한 정제, 환제, 당의정, 캡슐, 액체, 겔, 시럽, 슬러리, 현탁액 등으로 제제화되도록 할 수 있다.
- [0329] 경구용 제약 제제는 활성 화합물을 고체 부형제와 배합하고 그 결과 형성된 과립 혼합물을 처리하여 (임의로, 분쇄후) 정제 또는 당의정 코어를 수득함으로써 얻을 수 있다. 필요에 따라, 적합한 보조제를 첨가할 수 있다. 적합한 부형제에는 탄수화물 또는 단백질 충전제, 예를 들어 락토스, 수크로스, 만니톨 및 솔비톨을 비롯한 당; 옥수수, 밀, 쌀, 감자, 또는 기타 식물의 전분; 셀룰로스, 예를 들어 메틸 셀룰로스, 히드록시프로필메틸-셀룰로스 또는 소듐 카르복시메틸셀룰로스; 아라비아검 및 트라가칸트를 비롯한 검; 및 단백질, 예를 들어 젤라틴 및 콜라겐이 포함된다. 필요에 따라, 봉해제 또는 용해제, 예를 들어 가교결합 폴리비닐 피롤리돈, 아가, 및 알긴산 또는 그의 염, 예를 들어 알긴산 나트륨을 첨가할 수 있다.
- [0330] 당의정 코어는 적합한 코팅, 예를 들어 농축 당 용액과 함께 사용될 수 있고, 이는 아라비아 검, 탈크, 폴리비닐피롤리돈, 카르보폴 겔, 폴리에틸렌 글리콜, 및(또는) 이산화티타늄, 락커 용액, 및 적합한 유기 용매 또는 용매 혼합물을 포함할 수도 있다. 활성 화합물의 양, 즉 용량을 확인하거나 그 특성을 나타내기 위해, 염료 또는 안료를 정제 또는 당의정 코팅에 첨가할 수 있다.
- [0331] 경구로 사용될 수 있는 제약 제제는 젤라틴으로 제조된 푸쉬-핏 (push-fit) 캡슐, 뿐만 아니라 젤라틴 및 코팅제, 예를 들어 글리세롤 또는 솔비톨로 제조된 연질의 밀폐된 캡슐도 포함한다. 푸쉬-핏 캡슐은 충전제 또는 결합제, 예를 들어 락토스 또는 전분, 윤활제, 예를 들어 탈크 또는 마그네슘 스테아레이트, 및 임의로 안정화제와 혼합된 활성 성분을 함유할 수 있다. 연질 캡슐에서 활성 화합물은 안정화제와 함께, 또는 안정화제 없이 적합한 액체, 예를 들어 지방 오일, 액체, 또는 액체 폴리에틸렌 글리콜에 용해 또는 현탁될 수 있다.
- [0332] 다른 제약 조성물은 정제의 제조에 적합한 비독성 부형제와 혼합된 유효량의 결합제를 포함할 수 있다. 정제를 멸균수 또는 기타 적절한 비히클에 용해하여 단위 투여 형태의 용액을 제조할 수 있다. 적합한 부형제는 불활성 희석제, 예를 들어 탄산칼슘, 탄산나트륨 또는 중탄산나트륨, 락토스 또는 인산칼슘; 또는 결합제, 예를 들어 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 또는 윤활제, 예를 들어 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 탈크를 포함하지만, 이에 한정되지는 않는다.
- [0333] 지속- 또는 조절-전달 제제 내에 결합제 분자를 포함하는 제제를 비롯한 추가의 제약 조성물은 당업자에게 명백할 것이다. 다양한 기타 지속- 또는 조절-전달 수단, 예를 들어 리포솜 담체, 생분해성 미세입자 또는 다공성 비드 및 디포 주사를 제제화하기 위한 기술도 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 제약 조성물을 전달하기 위한 다공 중합성 미세입자의 조절된 방출을 기술하고 있는 PCT/US93/00829 참조. 지속-방출 제제에 대한 추가의 예로서 성형 제품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐 형태의 반투과성 중합체 매트릭스가 포함된다. 지속 방출 매트릭스는 폴리에스테르, 하이드로겔, 폴리락타이드 (U.S. 3,773,919, EP 58,481), L-글루탐산 및 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체 (Sidman 등, *Biopolymers*, **22**:547-556 (1983)), 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) (Langer 등, *J. Biomed. Mater. Res.*, **15**:167-277, (1981); Langer 등, *Chem. Tech.*, **12**:98-105(1982)), 에틸렌 비닐 아세테이트 (Langer 등, *supra*) 또는 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산 (EP 133,988)을 포함할 수 있다. 또한, 지속-방출 조성물은 당 분야에 공지된 여러 가지 임의의 방법으로 제조될 수 있는 리포솜을 포함한다. 예를 들어, 문헌 [Eppstein 등, *PNAS* (USA), **82**:3688 (1985); EP 36,676; EP 88,046; EP 143,949] 참조.
- [0334] 생체내 투여용 제약 조성물은 통상적으로 멸균되어야 한다. 이는 멸균 여과막을 통한 여과로 달성할 수 있다. 조성물이 동결건조된 경우에는, 동결건조 및 재구성 (reconstitution) 전 또는 후에 이 방법으로 멸균화를 수행할 수 있다. 비경구 투여용 조성물은 동결건조된 형태로 또는 용액으로 보관될 수 있다. 또한, 비경구 조성물은 통상적으로 멸균된 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들어 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개가 있는 정맥내

용액 주머니 또는 바이알 내에 담는다.

- [0335] 일단 제약 조성물이 제제화되면 용액, 현탁액, 겔, 에멀전, 고체, 또는 탈수 또는 동결건조된 분말로서 멸균 바이알 내에 보관할 수 있다. 이러한 제제는 즉시 사용 가능한 (ready-to-use) 형태로, 또는 투여 전에 재구성이나 필요한 (예를 들어, 동결건조된) 형태로 보관될 수 있다.
- [0336] 특정 실시태양에서, 본 발명은 1회용 투여 단위를 제조하기 위한 키트에 관한 것이다. 키트는 각각 건조된 단백질이 담긴 제1 용기 및 수성 제제가 담긴 제2 용기를 포함할 수 있다. 또한, 단일 및 다중-챔버의 미리 채워진 (pre-filled) 주사기 (예를 들어, 액체 주사기 및 리오시린지 (lyosyringe))를 포함하는 키트도 본 발명의 영역에 포함된다.
- [0337] 치료적으로 사용되는 제약 조성물의 유효량은 예를 들어, 치료 상황 및 목표에 따라 좌우될 것이다. 따라서, 당업자는 치료를 위한 적절한 용량 수준이 전달되는 분자, 사용되는 결합제 분자에 대한 지시사항, 투여 경로, 및 환자의 크기 (체중, 체표면적 또는 장기 크기) 및 조건 (연령 및 일반적인 건강)에 따라 일부 변화할 수 있음을 이해할 것이다. 따라서, 의사는 최적의 치료 효과를 얻기 위해 용량을 적정하고 투여 경로를 변경할 수 있다. 통상적인 용량은 상기 언급한 인자들에 따라 약 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg 이상의 범위일 수 있다. 다른 실시태양에서, 용량은 0.1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg; 또는 1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg; 또는 5 mg/kg 내지 약 100 mg/kg 범위일 수 있다.
- [0338] 임의의 화합물에 대해, 치료적 유효량은 우선 세포 배양 분석법 또는 마우스, 래트, 토끼, 개, 돼지 또는 원숭이와 같은 동물 모델에서 추정할 수 있다. 동물 모델은 적절한 농도 범위 및 투여 경로를 결정하는데 사용될 수도 있다. 그리고, 이러한 정보는 인간에게서 유효한 용량 및 투여 경로를 결정하는데 사용될 수 있다.
- [0339] 정확한 용량은 치료를 필요로 하는 개체와 관련된 인자들에 비추어 결정될 것이다. 용량 및 투여는 충분한 활성 화합물의 수준을 제공하거나 목적하는 효과를 유지하기 위해 조정된다. 고려될 수 있는 인자로는 질병 상태의 심도, 개체의 일반적인 건강, 연령, 체중, 및 개체의 성별, 투여 시간 및 빈도, 약물 조합(들), 반응 감수성, 및 치료에 대한 반응이 포함된다. 지속성 (long-acting) 제약 조성물은 특정 제제의 반감기 및 제거율에 따라 매 3일 내지 4일마다, 매주 또는 격주로 투여될 수 있다.
- [0340] 투여 빈도는 사용되는 제제 내의 결합제 분자의 약동학적 매개변수에 따라 좌우될 것이다. 통상적으로, 조성물은 목적하는 효과를 달성하는 용량에 도달할 때까지 투여된다. 따라서, 조성물은 단일 투여로, 또는 시간 경과에 따른 다수 투여로 (동일하거나 상이한 농도/용량으로), 또는 연속 주입으로 투여될 수 있다. 적절한 용량을 추가적으로 정밀하게 개량하는 작업은 일상적으로 이루어진다. 적절한 용량은 적절한 용량-반응 데이터를 사용하여 확인할 수 있다.
- [0341] 제약 조성물의 투여 경로는 공지된 방법에 따라, 예를 들어 경구로, 주사를 통해 정맥내로, 복막내로, 대뇌내로 (실질내), 뇌실내로, 근육내로, 눈 내로, 동맥내로, 문맥내로, 병변내 경로로, 척수내로, 수막강내로, 심실내로, 경피로, 피하로, 복막내로, 비강내로, 장관내로, 국소적으로, 설하로, 요도로, 질로, 또는 직장 수단으로 투여하고, 지속 방출 시스템 또는 이식가능한 장치에 의한다. 필요에 따라, 조성물은 볼루스 주사 또는 연속적인 주입으로, 또는 이식 장치로 투여될 수 있다.
- [0342] 별법으로 또는 추가적으로, 조성물은 목적 분자가 흡수 또는 캡슐화되는 곳에 막, 스폰지, 또는 기타 적절한 물질을 이식하여 국소적으로 투여될 수 있다. 이식 장치가 사용되는 경우, 장치는 적합한 조직 또는 장기 내에 이식될 수 있고, 목적하는 분자는 확산, 지효성 (timed-release) 볼루스, 또는 지속 투여로 전달될 수 있다.
- [0343] 일부 경우에는, 제약 조성물을 생체의 방식으로 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 경우에는, 환자로부터 제거된 세포, 조직 또는 장기를 제약 조성물에 노출시킨 후 세포, 조직 및(또는) 장기를 후속적으로 다시 환자에게 이식한다.
- [0344] 다른 경우에, 펩티마이드와 같은 본 발명의 결합제는 본원에 기술된 것과 같은 방법을 사용하여 폴리펩티드를 발현 및 분비하도록 유전적으로 조작된 특정 세포를 이식함으로써 전달될 수 있다. 상기 세포는 동물 또는 인간 세포일 수 있고, 자가 세포, 이종 (heterologous) 세포, 또는 이종발생 (xenogeneic) 세포일 수 있다. 임의로, 세포는 불멸화될 수 있다. 면역학적 반응이 일어날 가능성을 줄이기 위해, 주위 조직의 침윤을 피하도록 세포를 캡슐로 싸 수 있다. 캡슐화 물질은 통상적으로 단백질 생성물(들)은 방출시키지만 환자의 면역계 또는 주위 조직으로부터의 기타 유해한 인자에 의한 세포의 파괴는 예방하는 생체적합성, 반투과 중합성 봉입체 또는 막이다.

[0345] 본 발명의 결합제를 포함하는 제약 조성물은 임의의 미오스타틴-관련 질환을 치료하기 위해 개체에게 투여된다. 미오스타틴-관련 질환은 근이영양증, 암, AIDS, 근육 위축, 류마티스성 관절염, 신부전/요독증, 만성 심부전, 장기간의 침상안정, 척수 손상, 뇌졸중, 및 연령-관련 근감소증의 근육 소모증을 포함하지만 이에 한정되지는 않는 근육-소모 장애를 포함한다. 또한, 상기 조성물은 비만증, 당뇨병, 고혈당증을 치료하고 골밀도를 증가시키기 위해 투여된다.

도면의 간단한 설명

[0346] 도 1은 하기 실시예에서 기술된 C2C12 pMARE 루시퍼라제 분석을 각각 이용하기 위한 IC₅₀을 측정하기 위해 TN8-19 펩티드 QGHCTRWPMCPYP(서열번호:32) 및 TN8-19 펩티바디(pb)에 대해 발현된 루시퍼라제 활성(y-축) 대 농도(x-축)으로 측정된 미오스타틴 활성을 나타낸다. 펩티바디는 펩티드에 비해 낮은 IC₅₀ 수치를 갖는다.

도 2는 실시예 8에서 기술된 것과 같이, 14일만에 걸쳐서 1 x mTN8-19-21 펩티바디의 투여량을 증가시켜 처리한 CD1 nu/nu 마우스의 총 체중이 huFc 대조군으로 처리된 마우스에 비해 증가한 것을 나타내는 그래프이다.

도 3a는 도 2에서 처리된(실시예 8) 마우스의 부검에서 비복근 질량의 질량 증가를 나타낸다. 도 3b는 실시예 8에서 기술된 실험에서 13일째와 비교하여 0일째에 NMR로 측정된 제지방 체중의 증가를 나타낸다.

도 4는 실시예 8에 기술된 실험의 0일째 및 13일째에 NMR로 측정된 1x mTN8-19-32 펩티바디의 투여량을 증가하여 2주 간격으로 주입하여 처리한 CD1 nu/nu 마우스에 대한 제지방 체중의 증가를 나타낸다.

도 5a는 실시예 8에 기술된 것과 같은 35일 동안 2x mTN8-19-7 및 대조군과 비교하여 1x mTN8-19-7을 2주 간격으로 주입하여 처리한 CD1 nu/nu 마우스의 체중 증가를 나타낸다. 도 5b는 비히클(huFc)을 받은 동물(대조군)과 비교하여 1 mg/kg 및 3 mg/kg에서의 1x 및 2x 버전에 대한 부검에서 정육량의 증가를 나타낸다.

도 6a는 3개월간 하루 걸러서 10 mg/kg의 huFc 비히클 또는 친화력-성숙된(affinity-matured) 1x mTN8-19-33 펩티바디를 피하 투여하여 처리한 나이든 mdx 마우스의 체중에 대한 제지방 근육량의 증가를 나타낸다. 도 6b는 처리한지 3개월 후에 동일한 마우스에서 NMR에 의해 측정시 체중과 비교한 지방 질량의 변화를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0347] 하기 실시예는 지금까지 기술한 본 발명을 예시적으로 기술하기 위한 것이고, 한정하고자 하는 것이 아니다.

[0348] 실시예 1

[0349] 미오스타틴-결합 펩티드의 동정

[0350] TN8-IX (5×10^9 독립적 형질전환체), TN12-I (1.4×10^9 독립적 형질전환체), 및 선형 (2.3×10^9 독립적 형질전환체) (디악스 코포레이션 (Dyax Corp.))의 3종의 필라멘트형 파지 라이브러리를 미오스타틴 결합 파지를 선택하는데 사용했다. 각 라이브러리를 미오스타틴-코팅 표면 상에서 항온처리하고, 각각 상이한 패닝 조건을 사용했다: 비특이적 용리, 및 재조합 인간 액티빈 수용체 IIB/Fc 키메라 (알앤디 시스템즈사 (R&D Systems, Inc.), 미네소타주 미네아폴리스)를 사용하는 특이적 용리, 또는 미오스타틴 프로펩티드 용리 (하기 기술함). 3종의 라이브러리 모두에 대해, 제1 라운드의 선택에서는 비특이적 방식으로 파지를 용리한 반면, 제2 및 제3 라운드의 선택에서는 수용체 및 프로미오스타틴을 사용했다. 선택 과정은 하기 기술하는 바와 같이 수행했다.

[0351] 미오스타틴의 제조

[0352] 대장균 K-12 균주 2596 (ATCC 번호 202174)에서 다음과 같이 미오스타틴 단백질을 재조합적으로 생산했다. 인간 프로미오스타틴 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 공개된 국제특허출원 WO 00/24782에 기술된 방법에 따라, 발현 벡터 pCFM1656 (ATCC 번호 69576) 및 미국특허 제4,710,473호에 기술된 발현 벡터 시스템으로부터 유래된 pAMG21 발현 벡터 (ATCC 번호 98113) 내에 클로닝했다. 프로미오스타틴을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포유류 발현 벡터로부터 얻었다. 표준 PCR 방법으로 코딩 영역을 증폭하고, 이하의 PCR 프라이머를 사용하여 NdeI 및 BamHI에 대한 제한효소 부위를 도입했다.

5' 프라이머: 5'-GAGAGAGAGCATATGAATGAGAACAGTGAGCAAAAAG-3'(서열번호: 292)

[0353] 3' 프라이머: 5'-AGAGAGGGATCCATTATGAGCACCCACAGCGGTC-3' (서열번호: 293)

- [0354] PCR 생성물 및 벡터를 두 가지 효소 모두로 분해하고, 혼합하여 라이게이션했다. 라이게이션 생성물을 대장균 균주 번호 2596 내에 형질전환했다. 봉입체 형태로 재조합 단백질을 발현하는지에 대해 단일 콜로니들을 현미경으로 검사했다. 플라스미드를 단리하고 재조합 유전자의 코딩 영역을 서열분석하여, 유전적 정확도 (fidelity)를 검증했다.
- [0355] 37℃에서 배치법을 사용한 10 L의 배양액으로부터 박테리아 페이스트를 생성했다. 9.6 OD₆₀₀의 세포 밀도에서 HSL로 배양을 유도하고, 6시간 후 104 OD₆₀₀의 밀도에서 수집했다. 페이스트를 -80℃에 보관했다. 프로미오스타틴을 발현하는 대장균 페이스트를 미세유체화기로 16,000 psi에서 용해하고, 원심분리하여 불용성 봉입체 분획을 단리했다. 봉입체를 디티오프레이톨을 함유하는 구아니딘 히드로클로라이드에 재현탁하고 실온에서 용해했다. 그 다음, 이를 수성 완충액으로 30배 희석했다. 다시 폴딩된 프로미오스타틴을 농축한 다음, 완충액을 20 mM의 트리스 (pH 8.0)로 교환하고 음이온 교환 컬럼에 가했다. 음이온 교환 컬럼을 증가하는 염화나트륨 구배로 용리했다. 프로미오스타틴을 함유하는 분획을 수집했다. 대장균에서 생산된 프로미오스타틴은 처음 23 아미노산이 결손되어 있었고, 24 아스파라긴 잔기 앞의 메티오닌으로 시작한다. 성숙한 미오스타틴을 생산하기 위해, 수집한 프로미오스타틴을 효소적으로 절단하여 프로펩티드와 성숙한 미오스타틴 C 말단 사이를 절단했다. 그 다음, 0.1% 트리플루오로아세트산을 함유하는 아세토니트릴의 증가 구배를 사용하는 C4-rpHPLC 컬럼에 결과 혼합물을 가했다. 성숙한 미오스타틴을 함유하는 분획을 수집하고 스피드-백에서 건조시켰다.
- [0356] 대장균로부터 생산한 재조합 성숙 미오스타틴을 이하 기술하는 바와 같이 근모세포 C2C12계 분석법으로 시험했고, 포유류 세포 시스템 (알렌디 시스템즈사, 미네소타 미네아폴리스)에서 상업적으로 생산하는 재조합 쥐 미오스타틴에 비해 완전한 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 대장균에서 생산된 성숙 미오스타틴을 이하 기술하는 파지-디스플레이 및 스크리닝 분석법에 사용했다.
- [0357] 미오스타틴-코팅된 튜브의 준비
- [0358] 미오스타틴을 0.1 M의 탄산나트륨 완충액 (pH 9.6) 1 ml 중의 미오스타틴 단백질 8 µg의 농도로, 5 ml의 이뮤노™ 튜브 (뉴크 (NUNC)) 상에 고정화했다. 미오스타틴-코팅된 이뮤노™ 튜브를 실온에서 1시간 동안 회전 진탕하여 항온처리했다. 그 다음, 미오스타틴-코팅된 이뮤노™ 튜브에 2%의 우유-PBS 5 ml를 첨가하고 실온에서 1시간 동안 회전시키면서 항온처리하여 블로킹했다. 이 미오스타틴-코팅된 이뮤노™ 튜브를 PBS로 3회 세척한 후, 선택 과정을 실시했다. 또한, 음성 선택 (미오스타틴 없음)을 위해 추가의 이뮤노™ 튜브를 준비했다. 각각의 패닝 조건에 대해, 이뮤노™ 튜브를 미오스타틴 단백질 대신 2%의 BSA-PBS 1 ml로 코팅한 것을 제외하고는, 5개 내지 10개의 이뮤노™ 튜브에 상기 과정을 수행했다.
- [0359] 음성 선택
- [0360] 각각의 패닝 조건에서, TN8-IX 및 TN12-I 라이브러리에 대해 약 100개의 무작위 라이브러리 동등물 (TN8-IX에 대해 5×10^{11} pfu, TN12-I에 대해 1.4×10^{11} pfu), 및 선형 라이브러리에 대해 약 10개의 무작위 라이브러리 동등물 (2.3×10^{10} pfu)을 라이브러리 원액으로부터 분주하고, PBST로 1 ml로 희석했다 (0.05% 트윈-20을 포함하는 PBS). 희석된 라이브러리 원액 1 ml를 음성 선택을 위해 준비한 이뮤노™ 튜브에 첨가하고, 회전 진탕하면서 실온에서 10분 동안 항온처리했다. 파지 상청액을 꺼내어 다른 음성 선택 단계를 위해 제2의 이뮤노™ 튜브에 첨가했다. 이러한 방식으로, 5 내지 10 단계의 음성 선택을 수행했다.
- [0361] 미오스타틴 결합에 대한 선택
- [0362] 상기 음성 선택의 마지막 단계 후, 파지 상청액을 준비한 미오스타틴 코팅된 이뮤노™ 튜브에 첨가했다. 이뮤노™ 튜브를 회전 진탕하면서 실온에서 1시간 동안 항온처리하여, 특이적인 파지가 미오스타틴에 결합되도록 했다. 상청액을 버린 후, TN8-IX 및 TN12-I 라이브러리의 제2 라운드 선택에 대해서는 이뮤노™ 튜브를 2% 우유-PBS로 약 14회, 2% BSA-PBS로 2회, PBST로 10회 및 PBS로 1회 세척한 것을 제외하고는, 3개의 라이브러리 (TN8-IX, TN12-I 및 선형 라이브러리) 모두에 대한 3라운드의 선택 동안 이뮤노™ 튜브를 2%의 우유-PBS로 약 15회, PBST로 10회 및 PBS로 2회 세척했다.
- [0363] 비특이적 용리
- [0364] 마지막 세척 단계 후, 100 mM의 트리에틸아민 용액 1 ml (시그마, 미주리주 세인트루이스)를 첨가하고 10분 동안 회전 진탕하면서 항온처리하여 결합된 파지를 이뮤노™ 튜브로부터 용리했다. 그 다음, 1 M의 트리스-HCl (pH 7.5) 0.5 ml로 파지 함유 용액의 pH를 중성화했다.

- [0365] 결합된 파지의 수용체 (인간 액티빈 수용체) 용리
- [0366] 라운드 2 및 3에 대해, 마지막 세척 단계 이후 1 μ M의 수용체 단백질 1 ml (재조합 인간 액티빈 수용체 IIB/Fc 키메라, 알앤디 시스템즈사, 미네소타주 미네아폴리스)를 첨가하고 각 조건에 대해 1시간 동안 항온처리하여, 결합된 파지를 이뮤노™ 튜브로부터 용리했다.
- [0367] 결합된 파지의 프로토펙티드 용리
- [0368] 라운드 2 및 3에 대해, 마지막 세척 단계 이후 1 μ M의 프로토펙티드 단백질 (상기 기술한 바와 같이 제조) 1 ml를 첨가하고 각 조건에 대해 1시간 동안 항온처리하여, 결합된 파지를 이뮤노™ 튜브로부터 용리했다.
- [0369] 파지 증폭
- [0370] 12.5 μ g/ml의 테트라사이클린을 함유하는 LB 배지 중에서 신선한 대장균 (XL-1 블루 MRF) 배양물을 OD₆₀₀ = 0.5로 성장시켰다. 각각의 패닝 조건에 대해, 상기 배양물 20 ml를 얼음에서 냉각시켜 원심분리했다. 박테리아 펠렛을 1 ml의 min A 염 용액에 재현탁했다.
- [0371] 상이한 용리 방법에 의한 각 혼합물을 농축 박테리아 시료에 첨가하고 37℃에서 15분 동안 항온처리했다. 2 ml의 NZCYM 배지 (2x NZCYM, 50 μ g/ml의 엠포실린)을 각 혼합물에 첨가하고, 37℃에서 15분 동안 항온처리했다. 그 결과 형성된 용액 4 ml를 50 μ g/ml의 엠포실린을 함유하는 큰 NZCYM 아가 플레이트 상에 플레이팅하고 37℃에서 밤새 항온처리했다.
- [0372] 밤새 큰 NZCYM 아가 플레이트 상에서 성장시킨 각각의 박테리아/파지 혼합물을 긁어내어 35 ml의 LB 배지에 넣고, 아가 플레이트를 추가의 LB 배지 35 ml로 더 세정했다. 이로부터 제조된 LB 배지 중의 박테리아/파지 혼합물을 원심분리하여 박테리아를 펠렛화하여 제거했다. 50 μ l의 파지 상청액을 신선한 튜브로 옮겨 12.5 ml의 PEG 용액 (20% PEG8000, 3.5 M 아세트산 암모늄)을 첨가하고, 얼음 상에서 2시간 동안 항온처리하여 파지를 침전시켰다. 침전된 파지를 원심분리로 가라앉히고, 6 ml의 파지 재현탁 완충액 (250 mM NaCl, 100 mM 트리스 pH 8, 1 mM EDTA)에 재현탁했다. 이 파지 용액을 원심분리하여 잔류 박테리아를 제거함으로써 추가로 정제하고, 1.5 ml의 PEG 용액을 첨가하여 2번째로 파지를 침전시켰다. 원심분리 단계 후, 파지 펠렛을 400 μ l의 PBS에 재현탁했다. 이 용액을 최종적으로 원심분리하여 잔류 박테리아 찌꺼기를 제거했다. 이로부터 제조된 파지 제조물을 표준 플라크 형성 분석법 (Molecular Cloning, Maniatis 등, 3rd Edition)으로 역가측정했다.
- [0373] 추가 라운드의 선택 및 증폭
- [0374] 제2 라운드에서는, 제1 라운드에서 증폭된 파지 (10¹¹ pfu)를 투입 파지로 사용하여 선택 및 증폭 단계를 수행했다. 제2 라운드에서 증폭된 파지 (10¹¹ pfu)를 그 다음 투입 파지로 사용하여, 제3 라운드의 선택 및 증폭을 수행했다. 제3 라운드의 용리 단계 이후, 용리된 파지의 작은 분획을 상기 플라크 형성 분석법에서처럼 플레이팅했다. 각각의 플라크를 찍어서, 각 웰 내에 100 μ l의 TE 완충액을 포함하는 96웰 미세역가 플레이트에 넣었다. 이 마스터 플레이트를 4℃에서 밤새 항온처리하여, 파지가 TE 완충액으로 용출되도록 하였다.
- [0375] 클론 분석
- [0376] 파지 ELISA
- [0377] 파지 클론에 대해 파지 ELISA를 실시한 다음 서열분석했다. 서열을 하기 기술하는 바와 같이 결정했다.
- [0378] 파지 ELISA는 다음과 같이 수행했다. 대장균 XL-1 블루 MRF 배양물을 OD₆₀₀이 0.5에 도달할 때까지 성장시켰다. 이 배양물 30 μ l를 96웰 미세역가 플레이트의 각 웰에 분주했다. 용리된 파지 10 μ l를 각 웰에 첨가하고, 실온에서 15분 동안 박테리아에 감염되도록 했다. 12.5 μ g/ml의 테트라사이클린 및 50 μ g/ml의 엠포실린을 함유하는 LB 배지 약 120 μ l를 각 웰에 첨가했다. 그 다음, 미세역가 플레이트를 37℃에서 밤새 진탕하면서 항온처리했다. 미오스타틴 단백질 (0.1 M의 탄산나트륨 완충액 (pH 9.6) 중의 2 μ g/ml)이 96웰 맥시소프™ 플레이트 (눈크) 상에 코팅되도록 했다 (4℃에서 밤새). 대조군으로서, 별도의 맥시소프™ 플레이트를 PBS 중의 2% BSA로 코팅했다.
- [0379] 그 다음 날, 단백질 코팅된 맥시소프™ 플레이트의 액체를 버리고, PBS로 3회 세척하여 각 웰을 2%의 우유 용액 300 μ l로 실온에서 1시간 동안 블로킹했다. 우유 용액을 버리고 웰을 PBS 용액으로 3회 세척했다. 마지막 세척 단계 후, 약 50 μ l의 PBST-4% 우유를 단백질-코팅된 맥시소프™ 플레이트의 각 웰에 첨가했다. 96웰 미세

역가 플레이트의 각 웰로부터 밤새 배양한 배양물 약 50 μ l를 미오스타틴 코팅된 플레이트, 및 대조군인 2% BSA 코팅된 플레이트의 상응하는 웰로 옮겼다. 2종류의 플레이트에서 100 μ l의 혼합물을 실온에서 1시간 동안 항온처리했다. 맥시소프™ 플레이트로부터 액체를 버리고, 웰을 PBST로 약 3회 세척한 다음 PBS로 2회 세척했다. HRP-컨쥬게이션된 항-M13 항체 (아머샴 파마시아 바이오테크 (Amersham Pharmacia Biotech))를 약 1:7,500으로 희석하고, 희석된 용액 100 μ l를 맥시소프™ 플레이트의 각 웰에 첨가하여 실온에서 1시간 동안 항온처리했다. 액체를 다시 버리고 웰을 PBST로 약 3회, 그 다음 PBS로 2회 세척했다. 100 μ l의 루미글로™ (LumiGlo™) 화학발광 기질 (KPL)을 맥시소프™ 플레이트의 각 웰에 첨가하고, 반응이 일어나도록 약 5분 동안 항온처리했다. 맥시소프™ 플레이트의 화학발광 단위를 플레이트 판독기 (랩 시스템 (Lab System)) 상에서 판독했다.

[0380] 파지 클론의 서열분석

[0381] 각 파지 클론에 대해, PCR 방법으로 서열분석 주형을 제조했다. 이하의 올리고뉴클레오티드 쌍을 사용하여 500 뉴클레오티드 단편을 증폭했다:

프라이머 #1: 5'-CGGCGCAACTATCGGTATCAAGCTG-3'(서열번호: 294) 및

프라이머 #2: 5'-CATGTACCGTAACACTGAGTTTCGTC-3'(서열번호: 295).

[0382]

[0383] 각 클론에 대해 하기 혼합물을 제조했다.

시약	부피(μ L) / 시험관
증류된 H ₂ O	26.25
50% 글리세롤	10
10X PCR 완충액 (MgCl ₂ 없음)	5
25 mM MgCl ₂	4
10 mM dNTP 믹스(mix)	1
100 μ M 프라이머 1	0.25
100 μ M 프라이머 2	0.25
Taq 폴리머라제	0.25
TE 에서의 파지 (섹션 4)	3
최종 반응물 부피	50

[0384]

[0385] 씨모사이클러 (진앰프 PCR 시스템 9700, 어플라이드 바이오시스템)을 사용하여 다음의 프로그램으로 진행했다: [94℃에서 5분 동안; 94℃에서 30초 동안, 55℃에서 30초 동안, 72℃에서 45초 동안.] x 30 사이클; 72℃에서 7분 동안; 4℃로 냉각. 퀴아퀵 (QIAquick) 멀티웰 PCR 정제 키트 (퀴아젠 (Qiagen))를 제조자의 프로토콜에 따라 사용하여, 각 반응으로부터의 PCR 생성물을 정제했다. 각 PCR 반응물 중 10 μ l를 염료 1 μ l (10X BBXS 아가로스 겔 로딩 염료)와 혼합하고 1%의 아가로스 겔 상에서 영동하여, 정제된 PCR 생성물을 검사했다. 그 다음, ABI 377 시퀀서 (퍼킨 엘머 (Perkin Elmer))를 제조자의 권장 프로토콜에 따라 사용하여 남아있는 생성물을 서열분석했다.

[0386] 서열 정렬 및 분석

[0387] 뉴클레오티드 서열로부터 번역된 펩티드 서열은 ELISA 데이터와 상호관련이 있었다. 미오스타틴-코팅된 웰에서 높은 화학발광 단위를 나타내고 2% BSA-코팅된 웰에서 낮은 화학발광 단위를 나타낸 클론을 확인했다. 여러 번 나타나는 서열을 확인했다. 이러한 기준에 의해 선택된 후보 서열을 펩티바디로서 추가로 분석했다. 약 1200개의 클론을 각각 분석했다. 이들 중 약 132개의 펩티드를 본 발명의 펩티바디를 생성하기 위해 선택했다. 이를 이하 표 1a 내지 1d에 나타냈다. 서열번호 1 내지 129를 갖는 펩티드를 사용하여 동일한 명칭의 펩티바디를 제조했다. 표 1a 내지 1d에 나타낸 서열번호 130 내지 141을 갖는 펩티드는, 링커 서열로 결합된 서열번호 1 내지 132로부터의 둘 이상의 펩티드를 포함한다. 서열번호 130 내지 141을 사용하여 동일한 명칭의 펩티바디도 생산했다.

[0388] TN-8 유래 펩티드 군에 대해 공통서열을 결정했다. 이는 다음과 같다:

KDXCXXWHWMCKPX (서열번호: 142)

WXXCXXXGFWCXNX (서열번호: 143)

IXGCXWWDXXCYXX (서열번호: 144)

XXWCVSPXWFCXXX (서열번호: 145)

XXXCPWFAXXCVDW (서열번호: 146)

[0389]

[0390]

상기 모든 공통서열에 대해, 각 공통서열에서 밀줄 친 "코어 서열"은 그 위치에서 항상 나타나는 아미노산이다. "X"는 임의의 천연 또는 변화된 아미노산을 지칭한다. 코어 서열에 포함된 2개의 시스테인은 TN8-IX 라이브러리에서 고정된 아미노산이었다.

[0391]

[표 1a]

펩티바디 명칭	서열번호	펩티드 서열
미오스타틴-TN8-Con1	1	KDKCKMWHWMCKPP
미오스타틴-TN8-Con2	2	KDLCAMWHWMCKPP
미오스타틴-TN8-Con3	3	KDLCKMWKWMCKPP
미오스타틴-TN8-Con4	4	KDLCKMWHWMCKPK
미오스타틴-TN8-Con5	5	WYPCYEFHFWCYDL
미오스타틴-TN8-Con6	6	WYPCYEGHFWCYDL
미오스타틴-TN8-Con7	7	IFGCKWWDVQCYQF
미오스타틴-TN8-Con8	8	IFGCKWWDVDCYQF
미오스타틴-TN8-Con9	9	ADWCVSPNWFCMVM
미오스타틴-TN8-Con10	10	HKFCPWWALFCWDF
미오스타틴-TN8-1	11	KDLCKMWHWMCKPP
미오스타틴-TN8-2	12	IDKCAIWGWMCPPL
미오스타틴-TN8-3	13	WYPCGEFGMWCLNV
미오스타틴-TN8-4	14	WFTCLWNCNE
미오스타틴-TN8-5	15	HTPCPWFAPLCVEW
미오스타틴-TN8-6	16	KEWCWRWKWMCKPE
미오스타틴-TN8-7	17	FETCPSWAYFCLDI
미오스타틴-TN8-8	18	AYKCEANDWGCWWL
미오스타틴-TN8-9	19	NSWCEDQWHRCWWL
미오스타틴-TN8-10	20	WSACYAGHFWCYDL
미오스타틴-TN8-11	21	ANWCVSPNWFCMVM
미오스타틴-TN8-12	22	WTECYQEFWCWNL
미오스타틴-TN8-13	23	ENTCERWKWMCPPK
미오스타틴-TN8-14	24	WLPCHQEGFWMNMF
미오스타틴-TN8-15	25	STMCSQWHWMCNPF
미오스타틴-TN8-16	26	IFGCHWWDVDCYQF
미오스타틴-TN8-17	27	IYGCKWWDIQCYDI
미오스타틴-TN8-18	28	PDWCIDPDWWCKFW
미오스타틴-TN8-19	29	QGHCTRWPWMCPY
미오스타틴-TN8-20	30	WQECYREGFWCLQT
미오스타틴-TN8-21	31	WFDCYGPFGKCWSP
미오스타틴-TN8-22	32	GVRCPKGHLWCLYP
미오스타틴-TN8-23	33	HWACGYWPWSCKWV
미오스타틴-TN8-24	34	GPACHSPWWCVFG
미오스타틴-TN8-25	35	TTWCISPMWFCSQQ

[0392]

[0393]

[표 1b]

미오스타틴-TN8-26	36	HKFCPPWAIFCWDF
미오스타틴-TN8-27	37	PDWCVSPRWYCNMW
미오스타틴-TN8-28	38	VWKCHWFGMDCEPT
미오스타틴-TN8-29	39	KKHCQIWTWMCAPK
미오스타틴-TN8-30	40	WFQCGSTLFWCYNL
미오스타틴-TN8-31	41	WSPCYDHYFYCYTI
미오스타틴-TN8-32	42	SWMCGFFKEVCMWV
미오스타틴-TN8-33	43	EMLCMIHPVFCNPH
미오스타틴-TN8-34	44	LKTCNLWPWMCPL
미오스타틴-TN8-35	45	VVGCKWYEAWCYNK
미오스타틴-TN8-36	46	PIHCTQWAWMCPT
미오스타틴-TN8-37	47	DSNCPWYFLSCVIF
미오스타틴-TN8-38	48	HIWCNLAMMKCVEM
미오스타틴-TN8-39	49	NLQCIYFLGKCIYF
미오스타틴-TN8-40	50	AWRCMWFSDVCTPG
미오스타틴-TN8-41	51	WFRCLDADWCTSV
미오스타틴-TN8-42	52	EKICQMWSWMCAPP
미오스타틴-TN8-43	53	WFYCHLNKSECTEP
미오스타틴-TN8-44	54	FWRCAIGDKCKRV
미오스타틴-TN8-45	55	NLGCKWYEVWCFTY
미오스타틴-TN8-46	56	IDL CNMWDGMCYPP
미오스타틴-TN8-47	57	EMPCNIWGWMCPPV
미오스타틴-TN12-1	58	WFRCVLTGIVDWSECFGL
미오스타틴-TN12-2	59	GFSCFTGLDEFYVDCSPF
미오스타틴-TN12-3	60	LPWCHDQVNADWGFCMLW
미오스타틴-TN12-4	61	YPTCSEKFWIYGQTCVLW
미오스타틴-TN12-5	62	LGPCPIHHGPWPQYCVYW
미오스타틴-TN12-6	63	PFPCETHQISWLGHCLSF
미오스타틴-TN12-7	64	HWGCEDLMWSWHPLCRRP
미오스타틴-TN12-8	65	LPLCDADMMPTIGFCVAY
미오스타틴-TN12-9	66	SHWCETTFWMNYAKCVHA
미오스타틴-TN12-10	67	LPKCTHVPFDQGGFCLWY
미오스타틴-TN12-11	68	FSSCWSPVSRQDMFCVYF
미오스타틴-TN12-13	69	SHKCEYSGWLQPLCYRP
미오스타틴-TN12-14	70	PWWCQDNYVQHMLHCDSP
미오스타틴-TN12-15	71	WFRCLMNSFDAFQCVSY
미오스타틴-TN12-16	72	PDACRDQPWYMFMGCM LG
미오스타틴-TN12-17	73	FLACFVEFELCFDS
미오스타틴-TN12-18	74	SAYCHITESDPYVLCVPL
미오스타틴-TN12-19	75	PSICESYSTMWLPMCQHN
미오스타틴-TN12-20	76	WLDCHDDSWAWTKMCRSH
미오스타틴-TN12-21	77	YLNVCMMNTSPFVECVFN
미오스타틴-TN12-22	78	YPWCDGFMIIQQGITCMFY

[0394]

[0395]

[표 1c]

미오스타틴-TN12-23	79	FDYCTWLNFGKDWKCWSR
미오스타틴-TN12-24	80	LPLCNLKEISHVQACVLF
미오스타틴-TN12-25	81	SPECAFARWLGIEQCQRD
미오스타틴-TN12-26	82	YPQCFNLHLEWTECDWF
미오스타틴-TN12-27	83	RWRCEIYDSEFLPKCWWF
미오스타틴-TN12-28	84	LVGCDNVWHRCKLF
미오스타틴-TN12-29	85	AGWCHVWGEMFGMGCSAL
미오스타틴-TN12-30	86	HHECEWMARWMSLDCVGL
미오스타틴-TN12-31	87	FPMCGLAGMKDFDFCVWY
미오스타틴-TN12-32	88	RDDCTFWPEWLWKLCEP
미오스타틴-TN12-33	89	YNFCSYLFVGSKEACQLP
미오스타틴-TN12-34	90	AHWCEQGPWRYGNICMAY
미오스타틴-TN12-35	91	NLVCGKISAWGDEACARA
미오스타틴-TN12-36	92	HNVCTIMGSPMKWFCWND
미오스타틴-TN12-37	93	NDLCAMGWWRNTIWCQNS
미오스타틴-TN12-38	94	PPFCQNDNDMLQSLCKLL
미오스타틴-TN12-39	95	WYDCNVPNELLSGLCRLF
미오스타틴-TN12-40	96	YGDCDQNHWMWPFTCLSL
미오스타틴-TN12-41	97	GWMCHFDLHDWGATCQPD
미오스타틴-TN12-42	98	YFHCMPFGHEFEVHCESF
미오스타틴-TN12-43	99	AYWCWHGQCVRF
미오스타틴-선행-1	100	SEHWTFTDWDGNEWWVRPF
미오스타틴-선행-2	101	MEMLDSLFECLKDMVPISKA
미오스타틴-선행-3	102	SPPEEALMEWLGWQYGKFT
미오스타틴-선행-4	103	SPENLLNDLYILMTKQEWYG
미오스타틴-선행-5	104	FHWEEGIPFHVVTPYSYDRM
미오스타틴-선행-6	105	KRLLEQFMNDLAEVLVSGHS
미오스타틴-선행-7	106	DTRDALFQEFYEFVRSRLVI
미오스타틴-선행-8	107	RMSAAPRPLTYRDIMDQYWH
미오스타틴-선행-9	108	NDKAHFFEMFMDVHNFVES
미오스타틴-선행-10	109	QTQAQKIDGLWELQSI RNQ
미오스타틴-선행-11	110	MLSEFEFLGNLVHRQEA
미오스타틴-선행-12	111	YTPKMGSEWTSFWHNRIHYL
미오스타틴-선행-13	112	LNDTLLRELKMVLNSLSDMK
미오스타틴-선행-14	113	FDVERDLMRWLEGFMQSAAT
미오스타틴-선행-15	114	HHGWNYLRKGSAPQWFEAWV
미오스타틴-선행-16	115	VESLHQLQMWLDQKLASGPH
미오스타틴-선행-17	116	RATLLKDFWQLVEGYGDN
미오스타틴-선행-18	117	EELLREFYRFVSAFDY
미오스타틴-선행-19	118	GLLDEFSHFIAEQFYQMPGG
미오스타틴-선행-20	119	YREMSMLEGLLDVLERLQHY
미오스타틴-선행-21	120	HNSSQMLLSELIMLVGSM MQ
미오스타틴-선행-22	121	WREHFLNSDYIRDKLIAIDG

[0396]

[0397] [표 1d]

미오스타틴-선형-23	122	QFPFYVFDDLPAQLEYWIA
미오스타틴-선형-24	123	EFFHWLHNHRSEVNHWLDMN
미오스타틴-선형-25	124	EALFQNFFRDVLTLSEREY
미오스타틴-선형-26	125	QYWEQQWMTYFRENGLHVQY
미오스타틴-선형-27	126	NQRMMLEDLWRIMTPMFGRS
미오스타틴-선형-29	127	FLDELKAELSRHYALDDLDE
미오스타틴-선형-30	128	GKLIEGLLNELMQLETMPD
미오스타틴-선형-31	129	ILLDEYKDKDWKSWF
미오스타틴-2xTN8-19 kc	130	QGHCTRWPWMCPPYGSATGGS GSTASSGSGSATGQGHCTRWPW CPPY
미오스타틴-2xTN8-con6	131	WYPCYEGHFWCYDLGSGSTASSG SGSATGWYPCYEGHFWCYDL
미오스타틴-2xTN8-5 kc	132	HTPCPWFAPLCVEWGSATGGS STASSGSGSATGHTPCPWFAPLCV EW
미오스타틴-2xTN8-18 kc	133	PDWCIDPDWWCKFWGSGSATGGS GSTASSGSGSATGPDWCIDPDWW CKFW
미오스타틴-2xTN8-11 kc	134	ANWCVSPNWFCEMVMGSGSATGG SGSTASSGSGSATGANWCVSPNWF CEMVM
미오스타틴-2xTN8-25 kc	135	PDWCIDPDWWCKFWGSGSATGGS GSTASSGSGSATGPDWCIDPDWW CKFW
미오스타틴-2xTN8-23 kc	136	HWACGYWPWSCKWVGSATGG SGSTASSGSGSATGHWACGYWPW SCKWV
미오스타틴-TN8-29-19 kc	137	KKHCQIWTWMCAPKSGSATGGS GSTASSGSGSATGQGHCTRWPW CPPY
미오스타틴-TN8-19-29 kc	138	QGHCTRWPWMCPPYGSATGGS GSTASSGSGSATGKKHCQIWTW CAPK
미오스타틴-TN8-29-19 kn	139	KKHCQIWTWMCAPKSGSATGGS GSTASSGSGSATGQGHCTRWPW CPPY
미오스타틴-TN8-29-19-8g	140	KKHCQIWTWMCAPKGGGGGGGG QGHCTRWPWMCPPY
미오스타틴-TN8-19-29-6gc	141	QGHCTRWPWMCPPYGGGGGGKK HCQIWTWMCAPK

[0398]

[0399] 실시예 2

[0400] 펩티바디의 생성

[0401] 펩티드-Fc 융합 단백질을 코딩하는 DNA의 제작

[0402] 미오스타틴에 결합할 수 있는 펩티드들을 단독으로 또는 서로 함께 사용하여, 펩티드가 인간 IgG1의 Fc 도메인에 융합된 융합 단백질을 제작했다. 각 펩티바디의 Fc 부분의 아미노산 서열은 다음과 같다 (아미노 말단부터 카르복시 말단까지).

DKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL
DSDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVSMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK(서열번호: 296)

[0403]

[0404] 펩티드를 N 배위 (펩티드가 Fc 영역의 N-말단에 결합), C 배위 (펩티드가 Fc 영역의 C-말단에 결합), 또는 N, C 배위 (펩티드가 Fc 영역의 N 및 C 말단에 모두 결합)로 융합시켰다. 별도의 벡터를 사용하여 N-말단 융합체 및 C-말단 융합체를 발현시켰다. 선택된 파지 핵산에 올리고뉴클레오타이드 쌍 ("올리고")을 어닐링하여 펩티드를 코딩하는 이중가닥 뉴클레오타이드 서열을 생성함으로써, 각 펩티바디를 제작했다. 이 폴리뉴클레오타이드 분자들을 *Apal*부터 *XhoI* 까지의 단편으로 제작했다. 단편을 N-말단 배향에 대해서는 pAMG21-Fc-N-말단 벡터 내로, 또

는 C-말단 배향에 대해서는 pAMG21-Fc-C-말단 벡터 내로 (미리 *Apa*I 및 *Xho*I으로 분해했음) 라이게이션했다. 이로부터 제조된 라이게이션 혼합물을 표준 방법으로 대장균 균주 2596 또는 4167 세포 (균주 2596 세포의 *hsdR*- 변이체)에 전기천공으로 형질전환했다. 제조합 단백질 생성물을 생산하는 능력 및 정확한 뉴클레오티드 서열을 갖는 유전자 융합체를 갖는지에 대해 클론을 스크리닝했다. 각각의 개질된 펩티드에 대해 이러한 클론을 1개 선택했다.

[0405] pAMG21-2xBs-N(*ZeoR*)Fc로 명명한 다른 벡터를 사용하여 다수의 제작물들을 생성했다. 이 벡터는 *Bsm*BI으로 벡터를 분해한 것을 제외하고는, 상기 기술한 벡터와 유사했다. 일부 제작물은 Fc의 양쪽 말단에서 펩티드 서열에 융합되었다. 이러한 경우에, 벡터는 pAMG21-2xBs-N(*ZeoR*)Fc 및 pAMG21-2xBs-C-Fc의 복합물이었다.

[0406] pAMG21의 제작

[0407] 발현 플라스미드 pAMG21 (ATCC 번호 98113)은 공개된 국제특허출원 WO 00/24782에 기술된 과정에 따라, 발현 벡터 pCFM1656 (ATCC 번호 69576) 및 미국특허 제4,710,473호에 기술된 발현 벡터 시스템으로부터 얻었다 (이들 모두는 본원에 참고자료로 포함됨).

[0408] Fc N-말단 벡터

[0409] 주형으로 pAMG21 Fc_Gly5_Tpo 벡터를 사용하여 Fc N-말단 벡터를 제작했다. pAMG Tpo Gly5에서 Tpo 펩티드 서열을 제거하고 이를 *Apa*I 및 *Xho*I 부위를 포함하는 폴리링커로 대체하기 위해, 5' PCR 프라이머 (하기)를 설계했다. 이 벡터를 주형으로 사용하고 이하의 5' 프라이머 및 유니버설 3' 프라이머를 사용하여, 익스팬드 롱 (Expand Long) 폴리머라제로 PCR을 수행했다.

5'프라이머: 5'-ACAAACAAACATATGGGTGCACAGAAAGCGGCCGCAAAAAA
CTCGAGGGTGGAGCGGTGGGGACA-3' (서열번호: 297)

[0410] 3' 프라이머: 5'-GGTCATTACTGGACCGGATC-3' (서열번호: 298)

[0411] 이로부터 제조된 PCR 생성물을 겔 정제하고 제한효소 *Nde*I 및 *Bsr*GI으로 분해했다. 관심대상인 펩티드를 링커와 함께 코딩하는 플라스미드 및 폴리뉴클레오티드 모두를 쿼젠텐 (캘리포니아 쉿위쓰) 겔 정제 스핀 컬럼으로 겔 정제했다. 그 다음, 플라스미드 및 삽입물을 표준 라이게이션 과정으로 라이게이션하고, 결과 라이게이션 혼합물을 대장균 세포 (균주 2596)에 형질전환시켰다. 1개의 클론을 선택하고 DNA 서열분석을 수행했다. 정확한 클론을 동정하고, 이를 본원에 기술한 개질된 펩티드에 대한 벡터원으로 사용했다.

[0412] Fc C-말단 벡터의 제작

[0413] pAMG21 Fc_Gly5_Tpo 벡터를 주형으로 사용하여 Fc C-말단 벡터를 제작했다. Tpo 펩티드 서열을 제거하고 이를 *Apa*I 및 *Xho*I 부위를 포함하는 폴리링커로 대체하기 위해 3' PCR 프라이머를 설계했다. PCR은 유니버설 5' 프라이머 및 3' 프라이머를 사용하여 익스팬드 롱 폴리머라제로 수행했다.

5' 프라이머: 5'-CGTACAGGTTTACGCAAGAAAATGG-3' (서열번호: 299)

[0414] 3' 프라이머: 5'-TTTGTGGATCCATTACTCGAGTTTTTTGCGGCCGCT
TTCTGTGCACCACCACCTCCACCTTTAC-3' (서열번호: 300)

[0415] 이로부터 제조된 PCR 생성물을 겔 정제하고 제한효소 *Bsr*GI 및 *Bam*HI으로 분해했다. 관심대상인 각각의 펩티드를 링커와 함께 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 플라스미드를 쿼젠텐 겔 정제 스핀 컬럼으로 겔 정제했다. 그 다음, 플라스미드 및 삽입물을 표준 라이게이션 과정으로 라이게이션하고, 결과 라이게이션 혼합물을 대장균 세포 (균주 2596)에 형질전환시켰다. 균주 2596 (ATCC 번호 202174)은 *lux* 프로모터 및 2개의 람다 온도 감수성 억제자, *cI857s7* 및 *lacI*⁰ 억제자를 포함하도록 변형된 대장균 K-12 균주이다. 1개의 클론을 선택하여 DNA 서열분석을 수행했다. 정확한 클론을 동정하여, 이를 본원에 기술한 각각의 펩티다이드원으로 사용했다.

[0416] 대장균에서의 발현

[0417] 대장균 균주 2596 내의 pAMG21-Fc 융합 제작물 각각의 배양물을 37°C, 테리픽 (Terrific) 브로쓰 배지 (상기 언급한 샘브룩 등 (Sambrook 등)의 문헌에 인용된 문헌 [Tartof and Hobbs, "Improved media for growing plasmid and cosmid clones" Bethesda Research Labs Focus, Volume 9, page 12, 1987] 참조)에서 성장시켰다. *luxPR* 프로모터로부터의 유전자 생성물 발현의 유도는 합성 자기유도물질 (autoinducer), N-(3-옥소헥사노일)-DL-호모세린 락톤을 배양 배지에 1 밀리리터 당 20 ng (ng/ml)의 최종 농도로 첨가하여 달성했다. 37°C에서 추가로 6시간 동안 배양물을 항온처리했다. 그 다음, 봉입체의 존재에 대해 현미경으로 박테리아 배

양물을 검사하고 원심분리로 수집했다. 배양 유도시 굴절성 봉입체가 관찰되었는데, 이는 Fc-융합이 대장균의 불용성 분획에서 생산될 가능성이 가장 높다는 것을 나타낸다. 10% β-머캅토에탄올을 함유하는 레멜리(Laemmli) 시료 완충액에 세포 펠렛을 직접 현탁하여 용해한 다음 SDS-PAGE로 분석했다. 대부분의 경우, 쿠마씨(coomassie)-염색된 진한 밴드(적절한 분자량을 가짐)가 SDS-PAGE 겔 상에서 관찰되었다.

[0418] 펩티바디의 폴딩 및 정제

[0419] 세포를 물(부피 당 1/10 부피)에서 고압 균질화로 파괴하고(15,000 PSI에서 3회 통과), 봉입체를 원심분리로 수집했다(J-6B에서 4000 RPM으로 30분 동안). 봉입체를 상온에서 1/10 비율로 1시간 동안 6 M의 구아니딘, 50 mM 트리스, 8 mM DTT (pH 8.0)에 용해하였다. 용해된 혼합물을 4 M 우레아, 20% 글리세롤, 50 mM 트리스, 160 mM 아르기닌, 3 mM 시스테인, 1 mM 시스타민(pH 8.5)에 25배 희석했다. 혼합물을 차갑게 밤새 항온처리했다. 그 다음, 혼합물을 10 mM 트리스(pH 8.5), 50 mM NaCl, 1.5 M 우레아로 투석했다. 밤새 투석한 후, 아세트산으로 투석물의 pH를 pH 5로 조정했다. 침전물을 원심분리로 제거하고, 상청액을 10 mM NaAc, 50 mM NaCl (pH 5, 4℃)로 평형화한 SP-세파로스 패스트 플로우 컬럼 상에 로딩했다. 로딩 후 10 mM NaAc, 50 mM NaCl (pH 5.2)로 컬럼을 기준선까지 세척했다. 컬럼을 아세테이트 완충액 중의 50 mM - 500 mM NaCl 구배로 용리했다(20 컬럼 부피). 방법으로, 기준선까지 세척한 후 컬럼을 10 mM 인산나트륨(pH 7.0) 5 컬럼 부피로 세척하고, 컬럼을 인산염 완충액 중의 0 - 400 mM NaCl 구배로 용리했다(15 컬럼 부피). 컬럼 분획을 SDS-PAGE로 분석했다. 이량체 펩티바디를 함유하는 분획을 수집했다. 분획을 겔 여과로도 분석하여 응집체가 존재하는지 측정했다.

[0420] 다수의 펩티바디들을 하기 표 1a 내지 1d의 펩티드들로부터 제조하였다. 펩티드들을 인간 IgG1 Fc 분자에 부착시켜 하기 표 2a 내지 2i의 펩티바디들을 제조하였다. 하기 표 2a 내지 2i의 펩티바디들과 관련하여, C 구조는 명명된 펩티드가 Fc의 C-말단에 부착되었음을 나타낸다. N 구조는 명명된 펩티드가 Fc의 N-말단에 부착되었음을 나타낸다. N,C 구조는 각각의 Fc 분자에서 1개의 펩티드가 N-말단에 부착되고 1개의 펩티드가 C-말단에 부착되었음을 나타낸다. 2x 부호는 명명된 2개의 펩티드가 서로에 대해 탄뎀(tandem) 구조로 부착되며 또한 Fc의 N 말단 또는 C말단, 또는 N,C 둘다에 지시된 링커에 의해 분리되어 부착되었음을 나타낸다. 링커에 의해 분리되고 탄뎀 구조로 부착된 2개의 펩티드들은, 예를 들어 미오스타틴-TN8-29-19-8g로서 나타내는데, 이는 TN8-29 펩티드가 TN-8-19 펩티드에 (gly)₈ 링커에 의해 부착됨을 나타내는 것이다. 펩티드(들)는 달리 지시하지 않는 한 (gly)₅ 링커 서열에 의해 Fc에 부착시켰다. 몇몇 경우에, 펩티드(들)는 k 링커를 통해 부착하였다. k 또는 1k로 표시된 링커는 gsgsatggsgstassgsgsatg(서열번호: 301) 링커 서열을 지칭하고, kc는 Fc의 C-말단에 부착된 링커를 지칭하며, kn은 Fc의 N-말단에 부착된 링커를 지칭한다. 하기 표 2a 내지 2i에서, 칼럼 4는 제1 펩티드에 Fc를 연결하는 링커 서열을 나타내고, 5번째 칼럼은 구조 N, C 또는 둘다를 나타낸다.

[0421] Fc 분자는 용액에서 이량체화하기 때문에, 1개의 펩티드를 갖도록 구성된 펩티바디는 실제로 2개 카피의 펩티드와 2개 Fc 분자의 이량체일 것이며, 탄뎀 구조의 2개의 펩티드를 갖는 2X 버전은 실제로 4개 카피의 펩티드와 2개 Fc 분자의 이량체일 것이다.

[0422] 하기 표 2a 내지 2i에 나타낸 펩티바디들은 대장균에서 발현되기 때문에, 제1 아미노 잔기는 Met(M)이다. 따라서, N 구조의 펩티바디는 예를 들어 Met-펩티드-링커-Fc 또는 Met-펩티드-링커-펩티드-링커-Fc이다. C 구조의 펩티바디는 예를 들어 Met-Fc-링커-펩티드 또는 Met-Fc-링커-펩티드-링커-펩티드이다. C,N 구조의 펩티바디는 둘의 조합, 예를 들어 Met-펩티드-링커-Fc-링커-펩티드이다.

[0423] 대표적인 펩티바디들을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 하기 표 2a 내지 2i에 제공하였다. 본 발명의 대표적인 펩티바디들을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열은 다음과 같은 Fc 폴리펩티드 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다:

5'-GACAAAACCTCACACATGTCCACCTTGCCCAGCACCTGAACTC
CTGGGGGGACCGTCAGTTTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCTCA
TGATCTCCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG
AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATA
ATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAACAGCACGTACCGTGTG
GTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATC
TCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCA
TCCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAA
GGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG
GAGAACAACCTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCT
TCCTTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAA
GAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAG-3' (서열번호: 301)

또한, 다음과 같은 ggggg 링커를 코딩하는 폴리뉴클레오티드들도 포함한다:

5'-GGTGGAGGTGGTGGT-3' (서열번호: 302)

펩티마이드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 또한 메티오닌을 코딩하는 코돈인 ATG 및 TAA와 같은 정지 코돈을 포함한다.

따라서, 하기 표 2a 내지 2i에서 제1 펩티마이드의 구조는 C 구조 및 (gly)₅ 링커를 갖는 TN8-Con1이며, M-Fc-GGGGG-KDKCKMWHWMCKPP(서열번호: 303)이었다. 이 펩티마이드를 코딩하는 대표적인 폴리뉴클레오티드는 하기 서열 일 것이다:

5'- ATGGACAAAACCTCACACATGTCCACCTTGCCCAGCACCTGAA
CTCTGGGGGGACCGTCAGTTTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCC
TCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC
ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC
ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAACAGCACGTACCGT
GTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG
TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAAC
ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCC
CCATCCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG
CCGAGACAACCTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG
AAGTCTTCTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC
AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAGGTGGAGGTGGTGGTAAGACAA
ATGCAAAATGTGGCACTGGATGTGCAAAACCGCCG-3' (서열번호: 304)

[표 2a]

펩티마이드 명칭	펩티드	뉴클레오티드 서열 (서열번호)		
미오스타틴-TN8-con1	KDKCKMWHWMCKPP	AAAGACAAATGCAAAATGTGGCACTG GATGTGCAAACCGCCG (서열번호: 147)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-con2	KDLCAWHWMCKPP	AAAGACCTGTGCGCTATGTGGCACTG GATGTGCAAACCGCCG (서열번호: 148)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-con3	KDLCKMWKWMCKPP	AAAGACCTGTGCAAAATGTGGAAATG GATGTGCAAACCGCCG (서열번호: 149)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-con4	KDLCKMWHWMCKPK	AAAGACCTGTGCAAAATGTGGCACTG GATGTGCAAACCGAAA (서열번호: 150)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-con5	WYPCYEFHFWCYDL	TGGTACCCGTGTACGAATTCACCTTC TGGTGCTACGACCTG (서열번호: 151)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-con5	WYPCYEFHFWCYDL	TGGTACCCGTGTACGAATTCACCTTC TGGTGCTACGACCTG (서열번호: 152)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-con6	WYPCYEGHFWCYDL	TGGTACCCGTGTACGAAGGTCACCTT CTGGTGCTACGACCTG (서열번호: 153)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-con6	WYPCYEGHFWCYDL	TGGTACCCGTGTACGAAGGTCACCTT CTGGTGCTACGACCTG (서열번호: 154)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-con7	IFGCKWWDVQCYQF	ATCTTCGGTTGCAAAATGGTGGGACGT TCAGTGCTACCAAGTTC (서열번호: 155)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-con8	IFGCKWWDVDCYQF	ATCTTCGGTTGCAAAATGGTGGGACGT TGACTGCTACCAAGTTC (서열번호: 156)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-con8	IFGCKWWDVDCYQF	ATCTTCGGTTGCAAAATGGTGGGACGT TGACTGCTACCAAGTTC (서열번호: 157)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-con9	ADWCVSPNWFCMVM	GCTGACTGGTGGCTTTCCCCGAAGT GTTCTGCATGGTTATG (서열번호: 158)	5 gly	C

[0432]

[표 2b]

미오스타틴-TN8- con10	HKFCPWWALFCWDF	CACAAATTCTGCCCGTGGTGGGCTCT GTTCTGCTGGGACTTC (서열번호: 159)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 1	KDLCKMWHWMCKPP	AAAGACCTGTGCAAAATGTGGCACTG GATGTGCAAACCGCG (서열번호: 160)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 2	IDKCAIWGWMCPPL	ATCGACAAATGCGCTATCTGGGGTTG GATGTGCCCGCGCTG (서열번호: 161)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 3	WYPCGEFGMWCLNV	TGGTACCCGTGCGGTGAATTCGGTAT GTGGTGCTGAACGTT (서열번호: 162)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 4	WFTCLWNCNE	TGGTTCACCTGCCTGTGGAACCTGCGA CAACGAA (서열번호: 163)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 5	HTPCPWFAPLCVEW	CACACCCCGTGCCCGTGGTTCGCTCC GCTGTGCGTTGAATGG (서열번호: 164)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 6	KEWCWRWKWMCKPE	AAAGAATGGTGTGCGGTGGAAATG GATGTGCAAACCGGAA (서열번호: 165)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 7	FETCPSWAYFCLDI	ITCGAAACCTGCCCGTCTGGGCTTA CTTCTGCCTGGACATC (서열번호: 166)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 7	FETCPSWAYFCLDI	ITCGAAACCTGCCCGTCTGGGCTTA CTTCTGCCTGGACATC (서열번호: 167)	5 gly	N
미오스타틴-TN8- 8	AYKCEANDWGCWWL	GCTTACAAATGCGAAGCTAACGACTG GGGTTGCTGGTGGCTG (서열번호: 168)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 9	NSWCEDQWHRCWWL	AACTCCTGGTGCGAAGACCAGTGGCA CCGTGTGCTGGTGGCTG (서열번호: 169)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 10	WSACYAGHFWCYDL	TGGTCCGCTGTGCTACGCTGGTCACTTC TGGTGCTACGACCTG (서열번호: 170)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 11	ANWCVPSPNWFVMVM	GCTAACTGGTGCCTTTCGCCGAACCTG GTTCTGCATGGTTATG (서열번호: 171)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 12	WTECYQQEFWCWNL	TGGACCGAATGCTACCAGCAGGAATT CTGGTGCTGGAACCTG (서열번호: 172)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 13	ENTCERWKWMCPPK	GAAAACACCTGCGAACGTTGGAATG GATGTGCCCGCCGAAA (서열번호: 173)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 14	WLPCHQEGFWCMNF	TGGCTGCCGTGCCACCAGGAAGTTT CTGGTGCTGAACCTTC (서열번호: 174)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 15	STMCSQWHWMCNPF	TCCACCATGTGCTCCAGTGGCACTG GATGTGCAACCGTTC (서열번호: 175)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 16	IFGCHWWDVDCYQF	ATCTTCGGTTGCCACTGGTGGGACGTT GACTGCTACCACTTC (서열번호: 176)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 17	IYGCKWWDIQCYDI	ATCTACGGTTGCAAAATGGTGGGACAT CCAGTGCTACGACATC (서열번호: 177)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 18	PDWCIDPDWWCKFW	CCGGACTGGTGCATCGATCCGGACTG GTGGTGCAAAATTCTGG (서열번호: 178)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 19	QGHCTRWPWMCPPY	CAGGGTCACTGCACCCGTTGGCCGTG GATGTGCCCGCCGTAC (서열번호: 179)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 20	WQECYREGFWCLQT	TGGCAGGAATGCTACCGTGAAGTTT CTGGTGCTGCAGACC (서열번호: 180)	5 gly	C
미오스타틴-TN8- 21	WFDCYGPFGKCWSP	TGGTTCGACTGCTACGGTCCGGGTTTC AAATGCTGGTCCCG (서열번호: 181)	5 gly	C

[0433]

[0434]

[표 2c]

미오스타틴-TN8-22	GVRCPKGHLWCLYP	GGTGTTCGTTGCCGAAAGGTCACCT GTGGTGCCGTGTACCCG (서열번호: 182)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-23	HWACGYWPWSCWV	CAC TGGGCTTGCGGT TACTGGCCGTG GTCTGCAAATGGGTT (서열번호: 183)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-24	GPACHSPWWCVFG	GGTCCGGCTTGCCACTCCCCGTGGTG GTGGTGCGTTTTTCGGT (서열번호: 184)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-25	TTWCISPMWFCSQQ	ACCACCTGGTGCACTCTCCCGATGTG GTTCTGCTCCAGCAG (서열번호: 185)	5 gly	C
미오스타틴-TN8-26	HKFCPPWAIFCWF	CACAAATTCTGCCCGCGTGGGCTAT CTTCTGCTGGGACTTC (서열번호: 186)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-27	PDWCVSPRWYCNMW	CCGGACTGGTGCGTTTCCCCGCGTTG GTACTGCAACATGTGG (서열번호: 187)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-28	VWKCHWFGMDCEPT	GTTTGGAATGCCACTGGTTCGGTAT GGACTGCGAACCGACC (서열번호: 188)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-29	KKHCQIWTWMCAPK	AAAAAACTGCCAGATCTGGACCTG GATGTGCGCTCCGAAA (서열번호: 189)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-30	WFQCGSTLFWCYNL	TGGTTCCAGTGCGGTTCCACCCTGTTC TGGTGCTACAACCTG (서열번호: 190)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-31	WSPCYDHYFYCYTI	TGGTCCCCGTGTACGACCACTACTTC TACTGCTACCACTC (서열번호: 191)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-32	SWMCGFFKEVCMWV	TCCTGGATGTGCGGTTTCTCAAAGA AGTTTGCAATGTGGGTT (서열번호: 192)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-33	EMLCMIHPVFCNPH	GAAATGCTGTGCATGATCCACCCGGT TTTCTGCAACCCGCAC (서열번호: 193)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-34	LKTCNLWPWMCPL	CTGAAAACCTGCAACCTGTGGCCGTG GATGTGCCCGCCGCTG (서열번호: 194)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-35	VVGCKWYEAWCYNK	GTTGTTGGTTGCAAAATGGTACGAAGC TTGGTGCTACAACAAA (서열번호: 195)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-36	PIHCTQWAWMCPPT	CCGATCCACTGCACCCAGTGGGCTTG GATGTGCCCGCCGACC (서열번호: 196)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-37	DSNCPWYFLSCVIF	GACTCCAAGTCCCGTGGTACTTCCT GTCTGCGTTATCTTC (서열번호: 197)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-38	HIWCNLAMMKVEM	CACATCTGGTGCAACCTGGCTATGAT GAAATGCGTTGAAATG (서열번호: 198)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-39	NLQCIYFLGKCIYF	AACCTGCAGTGCATCTACTTCCTGGG TAAATGCATCTACTTC (서열번호: 199)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-40	AWRCMWFSVDVCTPG	GCTTGGCGTGTGCATGTGGTTCTCCGAC GTTTGCAACCCGGGT (서열번호: 200)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-41	WFRCLDADWCTSV	TGGTTTCGTTGTTTTCTTGATGCTGAT TGGTGTACTTCTGTT (서열번호: 201)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-42	EKICQMWSWMCAPP	GAAAAAATTGTCAAATGTGGTCTTG GATGTGTGCTCCACCA (서열번호: 202)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-43	WFYCHLNKSECTEP	TGGTTTTATTGTCATCTTAATAAATCT GAATGTACTGAACCA (서열번호: 203)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-44	FWRCAIGIDKCKRV	TTTTGGCGTTGTGCTATTGGTATTGAT AAATGTAAACGTGTT (서열번호: 204)	5 gly	N

[0435]

[0436]

[표 2d]

미오스타틴-TN8-45	NLGCKWYEVWCFTY	AATCTTGGTTGTAAATGGTATGAAGT TTGGTGTTTTACTTAT (서열번호: 205)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-46	IDLCNMWDGMCYPP	ATTGATCTTTGTAATATGTGGGATGGT ATGTGTTATCCACCA (서열번호: 206)	5 gly	N
미오스타틴-TN8-47	EMPCNIWGWMCPPV	GAAATGCCATGTAATATTTGGGGTTG GATGTGTCCACCAGTT (서열번호: 207)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-1	WFRCVLTGIVDWSECF GL	TGGTTCGGTTGCGTTCTGACCGGTATC GTTGACTGGTCCGAATGCTTCGGTCTG (서열번호: 208)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-2	GFSCFTGLDEFYVDCSP F	GGTTTCTCCTGCACCTTCGGTCTGGAC GAATTCTACGTTGACTGCTCCCCGTTC (서열번호: 209)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-3	LPWCHDQVNADWGF MLW	CTGCCGTGGTGCCACGACAGGTTAA CGCTGACTGGGGTTTCTGCATGCTGTG G (서열번호: 210)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-4	YPTCSEKFWIYGQTCV LW	TACCCGACCTGCTCCGAAAAATTCTG GATCTACGGTCAGACCTGCGTTCTGT GG (서열번호: 211)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-5	LGPCPIHHGPWPQYCV YW	CTGGGTCCGTGCCCGATCCACCACGG TCCGTGGCCGCACTACTGCGTTTACT GG (서열번호: 212)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-6	PPFCETHQISWLGHCLS F	CCGTTCCCGTGCGAAACCCACCAGAT CTCCTGGCTGGGTCACTGCCTGTCCTT C (서열번호: 213)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-7	HWGCEDLMWSWHPLC RRP	CACTGGGGTTGCGAAGACCTGATGTG GTCTGGCACCCGCTGTGCCGTCTGTC CG (서열번호: 214)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-8	LPLCADMMPTIGFCV AY	CTGCCGCTGTGCGACGCTGACATGAT GCCGACCATCGGTTTCTGCGTTGCTTA C (서열번호: 215)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-9	SHWCETTFWMNYAKC VHA	TCCCACTGGTGCGAAACACCTTCTG GATGAACTACGCTAAATGCGTTCACG CT (서열번호: 216)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-10	LPKCTHVPFDQGGFCL WY	CTGCCGAAATGCACCCACGTTCCGTT CGACCAGGGTGGTTTCTGCGTGTGGT AC (서열번호: 217)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-11	FSSCWSPVSRQDMFCV FY	TTCTCCTCCTGCTGGTCCCGGTTTCC CGTCAGGACATGTTCTGCGTTTCTAC (서열번호: 218)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-13	SHKCEYSGWLQPLCYR P	TCCACAAAATGCGAATACTCCGGTTG GCTGCAGCCGCTGTGCTACCGTCCG (서열번호: 219)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-14	PWWCQDNYVQHMLH CDSP	CCGTGGTGGTGCCAGGACAACTACGT TCAGCACATGCTGCACTGCGACTCCC CG (서열번호: 220)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-15	WFRCLMNSFDAFCV VSY	TGGTTCGGTTGCATGCTGATGAACTCC TTCGACGCTTCCAGTGCGTTTCTCTAC (서열번호: 221)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-16	PDACRDQPWYFMGCG MLG	CCGGACGCTTGCCGTGACCAGCCGTG GTACATGTTTCATGGGTTGCATGCTGG GT (서열번호: 222)	5 gly	N
미오스타틴-TN12-17	FLACFVEFELCFDS	TTCCTGGCTTGCTTCGTTGAATTCGAA CTGTGCTTCGACTCC (서열번호: 223)	5 gly	N

[0437]

[0438]

[표 2e]

미오스타틴- TN12-18	SAYCIITESDPYVLCVPL	TCCGCTTACTGCATCATCACCGAATCC GACCCGTACGTTCTGTGCGTTCGCTG (서열번호: 224)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-19	PSICESYSTMWLPMCQHN	CCGTCCATCTGCGAATCCTACTCCACC ATGTGGCTGCCGATGTGCCAGCACAA C (서열번호: 225)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-20	WLDCHDDSWAWTKMCRSH	TGGCTGGACTGCCACGACGACTCCTG GGCTTGACCAAAAATGTGCCGTTCCC AC (서열번호: 226)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-21	YLNCVMMNTSPFVECVFN	TACCTGAACCTGCGTTATGATGAACAC CTCCCCGTTTCGTTGAATGCGTTTCAA C (서열번호: 227)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-22	YPWCDGFMQQGITCMFY	TACCCGTTGGTGCGACGGTTTCATGAT CCAGCAGGGTATCACCTGCATGTTCT AC (서열번호: 228)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-23	FDYCTWLNGFKDWKCSR	TTCGACTACTGCACCTGGCTGAACGG TTTCAAAGACTGGAATGCTGGTCCC GT (서열번호: 229)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-24	LPLCNLKEISHVQACVLF	CTGCCGCTGTGCAACCTGAAAGAAAT CTCCCACGTTTCAGGCTTGGTTTCTGT C (서열번호: 230)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-25	SPECAFARWLIEQCQRD	TCCCCGGAATGCGCTTTCGCTCGTTGG CTGGGTATCGAACAGTGCCAGCGTGA C (서열번호: 231)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-26	YPQCFNLHLEWTECDWF	TACCCGCACTGCTTCAACCTGCACCT GCTGGAATGGACCGAATGCGACTGGT TC (서열번호: 232)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-27	RWRCEIYDSEFLPKCWFF	CGTTGGCGTTCGCAAAATCTACGACTC CGAATTCTGCCGAAATGCTGGTTCTT C (서열번호: 233)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-28	LVGCDNVWHRCKLF	CTGGTTGGTTGCGACAACGTTTGGCA CCGTTGCAAACTGTTC (서열번호: 234)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-29	AGWCHVWGEMFGMGCSAL	GCTGGTTGGTGCCACGTTTGGGGTGA AATGTTCCGTTATGGGTTGCTCCGCTCT G (서열번호: 235)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-30	HHECEWMARWMSLD CVGL	CACCACGAATGCGAATGGATGGCTCG TTGGATGTCCTGGACTGCGTTGGTCT G (서열번호: 236)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-31	FPMCIGIAGMKDFDFCV WY	TTCCCGATGTGCGGTATCGCTGGTATG AAAGACTTCGACTTCTGCGTTTGGTAC (서열번호: 237)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-32	RDDCTFWPEWLWKL CERP	CGTGATGATTGTACTTTTGGCCAGAA TGGCTTTGGAACCTTGTGAACGTCC A (서열번호: 238)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-33	YNFCSYLFVGSKEACQ LP	TATAATTTTGTCTTATCTTTTGGTG TTTCTAAAGAAGCTTGCTCAACTCCA (서열번호: 239)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-34	AHWCEQGPWRYGNIC MAY	GCTCATTGGTGTGAACAAGGTCCATG GCGTTATGGTAATATTTGTATGGCTTA T (서열번호: 240)	5 gly	N C
미오스타틴- TN12-35	NLVCCKISAWGDEAC ARA	AATCTTGTGTGTGGTAAATTTCTGCT TGGGGTGATGAAGCTTGTGCTCGTGC T (서열번호: 241)	5 gly	N

[0439]

[0440]

[표 2f]

미오스타틴- TN12-36	HNVCTIMGPSMKWFC WND	CATAATGTTTGTACTATTATGGGTCCT TCTATGAAATGGTTTTGTTGGAATGAT (서열번호: 242)	5 gly	N C
미오스타틴- TN12-37	NDLCAMWGWRTIWC QNS	AATGATCTTTGTGCTATGTGGGGTTGG CGTAATACTATTGGTGTCAAAATTCT (서열번호: 243)	5 gly	N C
미오스타틴- TN12-38	PPFCQNDNDMLQSLCK LL	CCACCATTTTGTCAAAATGATAATGA TATGCTTCAATCTCTTTGTAAACTTCT T (서열번호: 244)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-39	WYDCNVPNELLSGLCR LF	TGGTATGATTGTAATGTTCCAAATGA ACTTCITICTGGTCTTTGTCGTCITTTT (서열번호: 245)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-40	YGDQDQNHMWPFCT LSL	TATGGTGATTGTGATCAAAATCATTG GATGTGGCCATTACTTGTCTTTCTCT T (서열번호: 246)	5 gly	N C
미오스타틴- TN12-41	GWMCHFDLHDWGAT CQPD	GGTTGGATGTGTCATTTTGATCTTCAT GATTGGGGTGCTACTTGTCAACCAGA T (서열번호: 247)	5 gly	N
미오스타틴- TN12-42	YFHCMEFGHEFEVHCE SF	TATTTTCATTGTATGTTTGGTGGTCAT GAATTTGAAGTTCATTGTGAATCTTTT (서열번호: 248)	5 gly	N C
미오스타틴- TN12-43	AYWCWHGQCVRFF	GCTTATTGGTGTGGCATGGTCAATGT GTTCTGTTT (서열번호: 249)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-1	SEHWTFTDWDGNEW WVRPF	TCCGAACACTGGACCTTCACCGACTG GGACGGTAACGAATGGTGGGTTCGTC CGTTC (서열번호: 250)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-2	MEMLDSLFECLKDMVP ISKA	ATGGAAATGCTGGACTCCCTGTTTCA ACTGCTGAAAGACATGGTTCCGATCT CCAAAGCT (서열번호: 251)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-3	SPPEALMEWLGWQY GKFT	TCCCCGCCGGAAGAAGCTCTGATGGA ATGGCTGGGTGGCAGTACGGTAAAT TCACC (서열번호: 252)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-4	SPENLLNDLYILMTKQ EWYG	TCCCCGAAAACCTGCTGAACGACCT GTACATCCTGATGACCAACAGGAAT GGTACGGT (서열번호: 253)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-5	FHWEEGIPFHVVPYS YDRM	TTCCACTGGGAAGAAGGTATCCCGTT CCACGTTGTTACCCCGTACTCTACGA CCGTATG (서열번호: 254)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-6	KRLLEQFMNDLAEVLS GHS	AAACGCTCTGCTGGAACAGTTCATGAA CGACCTGGCTGAACTGGTTTCCGGTC ACTCC (서열번호: 255)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-7	DTRDALFQEFYEFVRS RLVI	GACACCCGTGACGCTCTGTTCCAGGA ATTCTACGAATTCGTTCCCGTCT GGTTATC (서열번호: 256)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-8	RMSAAPRPLTYRDIMD QYWH	CGTATGTCGCTGCTCCGCGTCCGCTG ACCTACCGTGACATCATGGACCAGTA CTGGCAC (서열번호: 257)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-9	NDKAHFFEMFMFDVH NFVES	AACGACAAAGCTCACTTCTCGAAAT GTTATGTTTCGACGTTCAACAATTCGT TGAATCC (서열번호: 258)	5 gly	N
미오스타틴- 선형-10	QTQAQKIDGLWELLQS IRNQ	CAGACCCAGGCTCAGAAATCGACGG TCTGTGGAACTGCTGCAGTCCATCC GTAACCAG (서열번호: 259)	5 gly	N

[0441]

[0442]

[표 2g]

미오스타틴- 선행-11	MLSEFEFLGNLVHRQ EA	ATGCTGTCCGAATTCGAAGAATTCCT GGGTAACCTGGTTCACCGTCAGGAAG CT (서열번호: 260)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-12	YTPKMGSEWTSFWHN RIHYL	TACACCCCGAAAATGGGTTCGGAATG GACCTCCTTCTGGCACCAACCGTATCC ACTACCTG (서열번호: 261)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-13	LNDTLRELKMLVNSL SDMK	CTGAACGACACCCTGCTGCGTGAAC GAAAATGGTTCTGAACTCCCTGTCCG ACATGAAA (서열번호: 262)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-14	FDVERDLMRWLEGFM QSAAT	TTCGACGTTGAACGTGACCTGATGCG TTGGCTGGAAGGTTTCATGCAGTCCG CTGCTACC (서열번호: 263)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-15	HHGWNYLRKGSAPQW FEAWV	CACCACGGTTGGAACACCTGCGTAA AGGTTCCGCTCCGCAGTGGTTCGAAG CTTGGGTT (서열번호: 264)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-16	VESLHQLQMWLDQKL ASGPH	GTTGAATCCCTGCACCGCTGCAGAT GTGGCTGACCGAAGTGGCTTCCG GTCCGCAC (서열번호: 265)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-17	RATLLKDFWQLVEGY GDN	CGTGCTACCTGCTGAAAGACTTCTG GCAGCTGGTTGAAGTTACGGTGACA AC (서열번호: 266)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-18	EELLREFYRFVSAFDY	GAAGAACTGCTGCGTGAATTCTACCG TTTCGTTTCCGCTTTCGACTAC (서열번호: 267)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-19	GLLDEFSHFIAEQFYQ MPGG	GGTCTGCTGGACGAATTCCTCCACTTC ATCGCTGAACAGTTCTACCAGATGCC GGGTGGT (서열번호: 268)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-20	YREMSMLEGLLDVLER LQHY	TACCGTGAATGTCCATGCTGGAAGG TCTGCTGGACGTTCTGGAACGCTGTC AGCACTAC (서열번호: 269)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-21	HNSSQMLLSELIMLVG SMMQ	CACAACCTCTCCAGATGCTGCTGTC CGAACTGATCATGCTGGTTGGTCCAT GATGCAG (서열번호: 270)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-22	WREHFLNSDYIRDKLI AIDG	TGGCGTGAACACTTCCTGAACCTCGA CTACATCCGTGACAACTGATCGCTA TCGACGGT (서열번호: 271)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-23	QFPFVYFDDLPAQLEY WIA	CAGTTCCCGTTCTACGTTTTCGACGAC CTGCCGGCTCAGCTGGAATACTGGAT CGCT (서열번호: 272)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-24	EFFHWLHNHRSEVNH WLDMN	GAATTCTTCCACTGGCTGCACAACCA CCGTCCGAAGTTAACCCTGGCTGG ACATGAAC (서열번호: 273)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-25	EALFQNFFRDVLTLSER EY	GAAGCTCTTTTCAAATTTTTCGT GATGTTCTTACTCTTCTGAACGTGAA TAT (서열번호: 274)	5 gly	N C
미오스타틴-선행 -26	QYWEQQWMYFRENG LHVQY	CAATATTGGGAACAACAATGGATGAC TTATTTTCGTGAAAATGGTCTTCATGT TCAATAT (서열번호: 275)	5 gly	N
미오스타틴- 선행-27	NQRMMLEDLWRIMTP MFGRS	AATCAACGTATGATGCTTGAAGATCT TTGGCGTATTATGACTCCAATGTTGG TCGTCT (서열번호: 276)	5 gly	N C
미오스타틴- 선행-29	FLDELKAELSRHYALD DLDE	TTTCTTGATGAACCTTAAAGCTGAACCT TCTCGTCATTATGCTCTTGATGATCTT GATGAA (서열번호: 277)	5 gly	N

[0443]

[0444]

[표 2h]

미오스타틴- 선형-30	GKLIEGLLNELMQLETF MPD	GGTAAACTTATTGAAGGTCTTCTTAAT GAACTTATGCAACTTGAAACTTTTATG CCAGAT (서열번호: 278)	5 gly	N C
미오스타틴- 선형-31	ILLDEYKDWKSWF	ATTCTTCTTCTTGATGAATATAAAAA GATTGGAAATCTTGGTTT (서열번호: 279)	5 gly	N
미오스타틴- 2XTN8-19 kc	QGHCTRWPWMCPPYG SGSATGGSGSTASSGS SATGQGHCTRWPWMC PPY	CAGGGCCACTGTACTCGCTGGCCGTG GATGTGCCCGCCGTACGGTTCTGGTT CCGCTACCGGTGGTTCTGGTTCCACTG CTTCTTCTGGTTCCGGTTCTGCTACTG GTCAGGGTCACTGCACTCGTTGGCCA TGGATGTGTCCACCGTAT (서열번호: 280)	1k	N
미오스타틴- 2XTN8-CON6	WYPCYEGHFWCYDLG SGSTASSGSATGWY PCYEGHFWCYDL	TGGTATCCGTGTTATGAGGGTCACTTC TGGTGCTACGATCTGGGTTCTGGTTCC ACTGCTTCTTCTGGTTCCGGTTCCGCT ACTGGTTGGTACCGGTGCTACGAAGG TCACTTTTGGTGTATGATCTG (서열번호: 281)	5 gly	C
미오스타틴- 2XTN8-5 kc	HTPCPWFAPLCVEWGS GSATGGSGSTASSGS ATGHTPCPWFAPLCVE W	CACACTCCGTGTCCGTGGTTTGTCCG CTGTGCGTTGAATGGGGTTCTGGTTCC GCTACTGGTGGTTCCGGTTCCACTGCT TCTTCTGGTTCCGGTTCTGCAACTGGT CACACCCCGTGCCCGTGGTTTGACC GCTGTGTGTAGAGTGG (서열번호: 282)	1k	C
미오스타틴- 2XTN8-18 kc	PDWCIDPDWWCKFWG SGSATGGSGSTASSGS SATGPDWCIDPDWWC KFW	CCGGATTGGTGTATCGACCCGGACTG GTGGTGCAAATCTGGGGTTCTGGTTTC CGCTACCGGTGGTTCCGGTTCCACTG CTTCTTCTGGTTCCGGTTCTGCAACTG GTCCGGACTGGTGCATCGACCCGGAT TGGTGGTGTAATTTTGG (서열번호: 283)	1k	C
미오스타틴- 2XTN8-11 kc	ANWCVSPNWF CMVM GSGSATGGSGSTASSGS GSATGANWCVSPNWF CMVM	CCGGATTGGTGTATCGACCCGGACTG GTGGTGCAAATCTGGGGTTCTGGTTTC CGCTACCGGTGGTTCCGGTTCCACTG CTTCTTCTGGTTCCGGTTCTGCAACTG GTCCGGACTGGTGCATCGACCCGGAT TGGTGGTGTAATTTTGG (서열번호: 284)	1k	C
미오스타틴- 2XTN8-25 kc	PDWCIDPDWWCKFWG SGSATGGSGSTASSGS SATGPDWCIDPDWWC KFW	ACCACTTGGTGCATCTCTCCGATGTG GTTCTGCTCTCAGCAGGGTTCTGGTTTC CACTGCTTCTTCTGGTTCCGGTTCTGC AACTGGTACTACTGGTGTATCTCTCC AATGTGGTTTTGTTCTCAGCAA (서열번호: 285)	1k	C
미오스타틴- 2XTN8-23 kc	HWACGYWPWSCKWV GSGSATGGSGSTASSGS GSATGHWACGYWPWS CKWV	CACTGGGCATGTGGCTATGGCCGTG GTCCTGCAAATGGGTTGGTTCTGGTTTC CGCTACCGGTGGTTCCGGTTCCACTG CTTCTTCTGGTTCCGGTTCTGCAACTG GTCAGTGGGCTTGCAGTTACTGGCCG TGGTCTTGTAATGGGTT (서열번호: 286)	1k	C

[0445]

[0446] [표 2i]

미오스타틴-TN8-29-19 kc	KKHCQIWTWMCAPKG SGSATGGSGSTASSGSG SATGQGHCTRWPWMC PPY	AAAAAACACTGTCAGATCTGGACTTG GATGTGCGCTCCGAAAGGTTCTGGTT CCGCTACCGGTGGTTCTGGTTCCACTG CTTCTTCTGGTTCCGGTTCGCTACTG GTCAGGGTCACTGCACTCGTTGGCCA TGGATGTGTCGCGGTAT (서열번호: 287)	1k	C
미오스타틴-TN8-19-29 kc	QGHCTRWPWMCPPYG SGSATGGSGSTASSGSG SATGKKHCQIWTWMC APK	CAGGGTCACTGCACCGTTGGCCGTG GATGTGCCCGCGTACGGTTCTGGTT CCGCTACCGGTGGTTCTGGTTCCACTG CTTCTTCTGGTTCCGGTTCGCTACTG GTAAAAACAACCTGCCAGATCTGGACT TGGATGTGCGCTCCGAAA (서열번호: 288)	1k	C
미오스타틴-TN8-29-19 kn	KKHCQIWTWMCAPKG SGSATGGSGSTASSGSG SATGQGHCTRWPWMC PPY	AAAAAACACTGTCAGATCTGGACTTG GATGTGCGCTCCGAAAGGTTCTGGTT CCGCTACCGGTGGTTCTGGTTCCACTG CTTCTTCTGGTTCCGGTTCGCTACTG GTCAGGGTCACTGCACTCGTTGGCCA TGGATGTGTCGCGGTAT (서열번호: 289)	1k	N
미오스타틴-TN8-29-19-8g	KKHCQIWTWMCAPKG GGGGGGGQGHCTRWP WMCPPY	AAAAAACACTGCCAGATCTGGACTTG GATGTGCGCTCCGAAAGGTTGGTGGTG GTGGTGGCGGTGGCCAGGGTCACTGC ACCGTTGGCCGTGGATGTGTCGCC GTAT (서열번호: 290)	8 gly	C
미오스타틴-TN8-19-29-6gc	QGHCTRWPWMCPPYG GGGGGKKHCQIWTWMC CAPK	CAGGGTCACTGCACCGTTGGCCGTG GATGTGCCCGCGTACGGTGGTGGTG GTGGTGGCAAAAACAACCTGCCAGATC TGGACTTGGATGTGCGCTCCGAAA (서열번호: 291)	6 gly	C

[0447]

[0448] 실시예 3

[0449] 시험관내 분석

[0450] 미오스타틴 활성화에 기초한 C2C12 세포의 분석

[0451] 본 분석은 미오스타틴이 그의 수용체에 결합하는 것을 저해하는 정도를 측정함으로써, 시험할 저해제의 미오스타틴 중성화 능력을 증명한다.

[0452] C2C12 근육모세포들(ATCC 번호: CRL-1772)을 pMARE-luc 구성물로 형질감염시켜 미오스타틴-반응성 리포터 세포주를 생성하였다. pMARE-luc 구성물은 CAGA 서열의 12개 반복구조를 클로닝하여 제조하였으며, 이는 pLuc-MCS 리포터 벡터(스트라타진(Stratagene) 카탈로그 번호 219087)내로 TATA 박스의 상류에 미오스타틴/액티빈 반응요소(Dennler 등, *EMBO* 17: 3091-3100 (1998))가 도입되었음을 나타낸다. 근육모세포 C2C12 세포는 천연적으로 그의 세포 표면에서 미오스타틴/액티빈 수용체를 발현시킨다. 미오스타틴이 세포 수용체에 결합하면, Smad 경로가 활성화되고, 인산화된 Smad가 상기 반응 요소에 결합하여 (Macias-Silva 등, *Cell* 87:1215 (1996)), 루시페라제 유전자를 발현시킨다. 그다음 루시페라제 활성을 상업적인 루시페라제 리포터 분석 키트(카탈로그 번호 E4550, 미국 위스콘신주 매디슨 소재의 프로메가(Promega))를 사용하여 제조자의 프로토콜에 따라 측정하였다. pMARE-luc(C2C12/pMARE 클론 번호 44)로 형질감염된 안정한 C2C12 세포주를 사용하여 하기 절차에 따라 미오스타틴 활성을 측정하였다.

[0453] 동일한 수의 리포터 세포들(C2C12/pMARE 클론 번호 44)을 96웰 배양배지에서 평판배양하였다. 2개의 펩티바디 희석액을 사용하는 제1 라운드 스크리닝을 4nM로 고정된 미오스타틴 농도에서 수행하였다. 재조합 성숙 미오스타틴을 각각 40nM 및 400nM의 펩티바디들과 함께 실온에서 2시간 동안 예비 항온처리하였다. 리포터 세포 배양물을 펩티바디의 부재 또는 존재하에 6시간 동안 미오스타틴으로 처리하였다. 미오스타틴 활성을 처리된 배양물에서 루시페라제 활성을 측정함으로써 결정하였다. 본 분석법을 사용하여 리포터 분석에서 미오스타틴 신호 활성을 저해한 펩티바디 성공물을 초기에 확인하였다. 이어서, 4nM로 고정된 미오스타틴 농도에서 9개의 점에 의한 적정 곡선을 생성하였다. 미오스타틴을 하기 9가지 농도의 펩티바디들과 함께 2시간 동안 예비 항온처리한 후, 이 혼합물을 리포터 세포 배양물에 첨가하였다: 0.04 mM, 0.4 nM, 4 nM, 20 nM, 40 nM, 200 nM, 400 nM, 2 μM 및 4 μM. 다수의 대표적인 펩티바디들에 대한 IC₅₀ 수치들을 하기 표 3에서 제공하였고, 친화력-성숙된 펩티바디들에 대한 IC₅₀ 수치들을 하기 표 8에서 제공하였다.

[0454] 비아코어(등록상표) 분석

[0455] 각각의 후보 미오스타틴 펩티바디의 친화력 분석을 센서 칩 CM5 및 실행 완충액으로 0.005% P20 계면활성제(비

아코어, 인코포레이티드)를 사용하는 비아코어(등록상표) 3000 장치상에서 수행하였다. 제조합 성숙 미오스타틴 단백질을 제조자의 제안 프로토콜에 따라 아민 커플링 키트(비아코어, 인코포레이티드)를 사용하여 1급 아민기를 통해 연구등급의 CM5 센서 칩(비아코어, 인코포레이티드)에 고정화시켰다.

[0456]

직접 결합 분석법을 사용하여 펩티마이드들을 스크리닝하고 이들의 고정화된 미오스타틴에 대한 결합능 순서로 등급을 매겼다. 결합 분석법은 각각의 후보 미오스타틴-결합 펩티마이드의 2가지 농도(40 및 400nM)를 3분간 50 μ l/분의 유속으로 고정화된 미오스타틴 표면에 주입시켜 수행하였다. 3분의 해리 시간 후에, 표면을 재생시켰다. 결합 곡선들을 결합 신호 강도 및 해리 속도에 대해 정량적으로 비교하였다. k_a (결합 속도 상수), k_d (해리 속도 상수) 및 K_D (해리 평형 상수)를 비롯한 펩티마이드 결합 동역학 변수들을 BIA 이밸류에이션(evaluation) 3.1 컴퓨터 프로그램(비아코어, 인코포레이티드)을 사용하여 결정하였다. 해리 평형 상수(nM로 표현)가 더 작을수록, 미오스타틴에 대한 펩티마이드의 친화력은 더 크다. 펩티마이드 K_D 수치들의 예를 하기 표 3 및 하기 친화력-성숙된 펩티마이드들에 대해서는 6a 내지 6o에 나타내었다.

[0457]

ActRIIB/Fc 표면에 대한 차단성 분석

[0458]

차단성 분석은 비아코어(등록상표) 분석 시스템으로 고정화된 ActRIIB/Fc(R&D 시스템즈, 미국 미네소타주 미네아폴리스 소재) 및 미오스타틴을 사용하여 펩티마이드들의 존재 및 부재하에서 수행하였다. 이러한 분석법을 사용하여 펩티마이드들을 비-중성화(ActRIIB/Fc에 대한 미오스타틴의 결합을 방지하지 않는 것) 또는 중성화(ActRIIB/Fc에 대한 미오스타틴의 결합을 방지하는 것)로 분류하였다. 기저선 미오스타틴-ActRIIB/Fc 결합성을 먼저 어떠한 펩티마이드도 없는 상태에서 측정하였다.

[0459]

초기 스크리닝 연구를 위해, 펩티마이드들을 시료 완충액중에서 4 nM, 40 nM 및 400 nM로 희석하고, 4 nM 미오스타틴(마찬가지로 시료 완충액에서 희석됨)과 함께 항온처리하였다. 펩티마이드:리간드 혼합물을 실온에서 평형에 도달하도록 한 후(5시간 이상), 고정화된 ActRIIB/Fc 표면상으로 10 μ l/분의 유속으로 20 내지 30분간 주입하였다. 증가된 결합 반응(펩티마이드가 없는 대조군 결합에 대한 것)은 미오스타틴에 대한 펩티마이드의 결합이 비-중성화임을 나타내었다. 감소된 결합 반응(대조군에 대한 것)은 미오스타틴에 대한 펩티마이드의 결합이 ActRIIB/Fc에 대한 미오스타틴의 결합을 차단함을 나타내었다. 선택된 펩티마이드들을 IC_{50} 수치(중성화 펩티마이드들의 경우) 또는 EC_{50} (비-중성화 펩티마이드들의 경우)을 유도하기 위해 일련의 전체 농도의 차단성 분석법을 사용하여 더욱 특징을 분석하였다. 펩티마이드 시료들을 시료 완충액중에서 200nM에서 0.05mM까지 순차적으로 희석하고, 실온에서 4nM 미오스타틴으로 항온처리하여 평형에 도달시킨 후(최소한 5시간), 고정화된 ActRIIB/Fc 표면에 대해 10 μ l/분의 유속으로 20 내지 30분간 주입하였다. 시료를 주입한 후, 결합된 리간드를 3분간 수용체로부터 해리시켰다. 결합 신호 대 펩티마이드 농도의 곡선을 그려, 4nM 미오스타틴의 존재하의 각각의 펩티마이드에 대한 IC_{50} 수치들을 계산하였다. 예를 들어, 펩티마이드 TN8-19, L2 및 L17은 세포에 기초한 분석법에서는 미오스타틴 활성을 저해하였지만, TN8-19의 결합은 미오스타틴/ActRIIB/Fc 상호작용을 차단하지 않았음이 밝혀졌는데, 이는 TN8-19가 나머지 2개의 펩티마이드들에서 관찰되는 것과는 다른 에피토프에 결합함을 나타내는 것이다.

[0460]

펩티마이드들에 대한 에피토프 바이닝(binning)

[0461]

정제된 펩티마이드를 비아코어 칩에 고정화시켜 미오스타틴을 포획한 후 제2 펩티마이드를 주입하고, 포획된 미오스타틴에 결합된 제2 펩티마이드의 함량을 측정하였다. 별개의 에피토프를 가진 펩티마이드들만이 포획된 미오스타틴에 결합할 것이며, 따라서 유사하거나 별개의 에피토프 결합 성질을 갖는 펩티마이드들을 바이닝할 수 있다. 예를 들어, 펩티마이드 TN8-19 및 L23은 미오스타틴상에서 상이한 에피토프들에 결합함이 확인되었다.

[0462]

선택성 분석

[0463]

본 분석을 비아코어(등록상표) 기술을 사용하여 수행하여, 다른 TGF β 계열 일원들에 대한 펩티마이드 결합의 선택성을 측정하였다. ActRIIB/Fc, TGF β R11/Fc 및 BMPR-1A/Fc(모두 미국 미네소타주 미네아폴리스 소재의 R&D 시스템즈로부터 구입함)를 제조자의 제안 프로토콜에 따라 연구등급의 센서 칩들에 공유적으로 커플링시켰다. 비아코어 분석법은 굴절률의 변화를 감지하기 때문에, 어떠한 펩티마이드도 없는 상태의 대조군 표면에 주입시 감지된 반응에 비해 고정화된 수용체 표면에 주입시 감지된 반응의 차이는 각각 수용체에 대한 액티빈 A, TGF β 1, TGF β 3 및 BMP4의 실제 결합을 나타내는 것이다. 펩티마이드와 TGF β 분자의 예비 항온처리로부터, 결합 반응의 변화(증가 또는 감소)는 TGF β 계열의 분자에 대한 펩티마이드의 결합을 나타낸다. 본 발명의 펩티마이드는 모두 미오스타틴에는 결합하였지만, 액티빈 A, TGF β 1, TGF β 3 또는 BMP4에는 결합하지 않았다.

[0464] 킨엑스 A™ 평형 분석

[0465] 킨엑스 A™ 기술(사피딘 인스트루먼츠, 인코포레이티드(Sapidyne Instruments, Inc.))을 사용하는 용액에 기초한 평형-결합 분석법을 사용하여 펩티바디 분자에 대한 미오스타틴 결합의 해리 평형(K_D)을 측정하였다. 이러한 용액에 기초한 분석법은 일부 경우에 비아코어 분석법보다 더욱 민감한 것으로 여겨진다. 리액티-겔(Reacti-Gel)™ 6X를 약 50 μ g/ml의 미오스타틴으로 하룻밤 동안 미리 코팅시킨 후, BSA로 차단시켰다. 30pM 및 100pM의 펩티바디 시료를 시료 완충액중의 다양한 농도(0.5pM 내지 5nM)의 미오스타틴과 함께 실온에서 8시간 동안 항온 처리한 후 미오스타틴-코팅된 비드를 통해 실행하였다. 비드-결합한 펩티바디의 함량을 슈퍼블럭(superblock)에서 1mg/ml의 형광(Cy5) 표지된 염소 항-인간-Fc 항체로 정량하였다. 결합 신호는 소정의 미오스타틴 농도와 평형에서 유리 펩티바디의 농도에 비례하였다. K_D 를 킨엑스 A™ 소프트웨어(사피딘 인스트루먼츠, 인코포레이티드)에서 제공된 이중-곡선 한-자리 균일 결합 모델을 사용하여 경쟁 곡선들의 비선형 회귀로부터 획득하였다.

[0466] **실시예 4**

[0467] **미오스타틴 저해제의 비교**

[0468] 3가지 대표적인 제1 라운드 펩티바디들의 결합능(K_D) 및 저해능(IC_{50})을 수용성 수용체 융합 단백질 actRIIB/Fc(R&D 시스템즈, 인코포레이티드, 미국 미네소타주 미네아폴리스 소재)에서 측정한 K_D 및 IC_{50} 과 비교하였다. IC_{50} 수치는 실시예 3에 기재된 pMARE luc 세포에 기초한 분석법을 사용하여 측정하였고, K_D 수치는 실시예 3에 기재된 비아코어(등록상표) 분석법을 사용하여 측정하였다.

[0469] [표 3]

저해제	IC_{50} (nM)	K_D (nM)
ActRIIB/Fc	~83	~7
2xTN8-19-kc	~9	~2
TN8-19	~23	~2
TN8-29	~26	~60
TN12-34	~30	-----
선형-20	~11	-----

[0470]

[0471] 펩티바디들은 수용체/Fc 저해제에 비해 개선된 IC_{50} 을 가졌으며, 2개의 펩티바디가 수용체/Fc에 필적하는 결합 친화력을 가졌다.

[0472] **실시예 5**

[0473] **펩티드 및 펩티바디의 미오스타틴 저해능의 비교**

[0474] 하기 펩티드 서열을 사용하여 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 상응하는 펩티바디 TN8-19(pb)를 구성하였다: QGHCTRWPMCPY(TN8-19)(서열번호: 33). 펩티드 단독 및 펩티바디를 모두 상기 실시예 3에 기재된 C2C12에 기초한 분석법을 사용하여 미오스타틴 저해 활성에 대해 스크리닝하였다. 도 1로부터 펩티바디에 대한 IC_{50} (미오스타틴의 50%를 저해하는데 유효한 농도)이 펩티드보다 상당히 낮음을 알 수 있었으며, 따라서 미오스타틴 활성을 저해하는 펩티드의 능력이 펩티드를 펩티바디 구조로 대체함으로써 상당히 개선된 것이다.

[0475] **실시예 6**

[0476] **친화력-성숙된 펩티드 및 펩티바디의 생성**

[0477] 펩티바디를 생성하는데 사용된 제1 라운드 펩티드들중 수개의 펩티드들을 친화력 성숙을 위해 골랐다. 선택된 펩티드들은 하기 서열을 포함하였다: 시스테인 강제된 TN8-19

QGHCTRWPMCPYPY (서열번호: 33). 및 선형 펩티드들
 선형-2 MEMLDSLFEELLKDMVPISKA (서열번호: 104);
 선형-15 HHGWNYLRKGSAPQWFEEAWV (서열번호: 117);
 선형-17 RATLLKDFWQLVEGYGDN (서열번호: 119);
 선형-20 YREMSMLEGLLDVLERLQHY (서열번호: 122),
 선형-21 HNSSQMLLSELIMLVGSMMQ (서열번호: 123),
 선형-24 EFFHWLHNHRSEVNHWLDNMN (서열번호: 126).

공통서열에 기초하여, "코어" 아미노산(공통서열로부터 결정됨)이 발생 빈도수에서 일정하거나 편재되는, 지향된 제2의 파지 디스플레이 라이브러리를 생성하였다. 또다르게는, 개개의 펩티드 서열을 사용하여 편재된, 지향된 파지 디스플레이 라이브러리를 생성할 수 있다. 이러한 라이브러리를 더욱 엄한 엄격도 조건하에서 패닝하면 미오스타틴에 대한 개선된 결합성, 미오스타틴에 대한 선택적인 결합성 또는 몇가지 부가적인 원하는 성질을 갖는 펩티드들을 수득할 수 있다.

라이브러리용 도핑된 올리고의 생산

코어 서열에서 91%가 "도핑"된, 즉 각각의 용액이 91%의 대표 염기(A, G, C 또는 T) 및 각각 3%의 나머지 3개 뉴클레오티드를 갖는 올리고뉴클레오티드를 DNA 합성장치에서 합성하였다. 예를 들어, TN8-19 계열의 경우, 제2의 파지 라이브러리를 구성하는데 사용된 91% 도핑된 올리고는 하기 서열이었다:

5'-CAC AGT GCA CAG GGT NNK NNK NNK caK ggK caK tgK acK cgK tgK
 ccK tgK atK tgK ccK ccK taK NNK NNK NNK CAT TCT CTC GAG ATC A-3'
 (서열번호: 634)

상기 서열에서, "N"은 4가지 뉴클레오티드 A, T, C 및 G가 각각 동일하게 존재함을 나타내고, K는 G 및 T가 동일하게 존재함을 나타내며, 소문자는 91%의 지시된 염기 및 각각 3%의 다른 염기들의 혼합물을 나타낸다. 이러한 방식으로 제조된 올리고뉴클레오티드 계열을 전술한 바와 같이 PCR 증폭시키고, 전술한 프로토콜에 따라 파지미드 벡터, 예를 들어 변형된 pCES1 플라스미드(Dyax), 또는 임의의 이용가능한 파지미드 벡터에 연결시켰다. 생성된 제2의 파지 라이브러리는 모두 91% 도핑되었으며, 1 내지 6.5×10^9 개의 독립 형질전환체를 가졌다. 라이브러리를 전술한 바와 같지만 하기 조건을 사용하여 패닝하였다:

제1 라운드 패닝:

도입 파지 수: 10^{12} 내지 10^{13} cfu의 파지미드

선택 방법: 닝크 이뮤노 튜브(Nunc Immuno Tube) 선택 방법

음성 선택: 2% BSA로 코팅된 닝크 이뮤노 튜브로 각각 10분간 2X

패닝 코팅: 0.1M 탄산나트륨 완충액(pH 9.6) 1ml중의 $1\mu\text{g}$ 의 미오스타틴 단백질로 코팅함

결합 시간: 3시간

세척 조건: 6X 2%-Milk-PBST, 6X PBST, 2X PBS

용리 조건: 100 mM TEA 용리

제2 라운드 패닝:

도입 파지 수: 10^{11} cfu의 파지미드

선택 방법: 닝크 이뮤노 튜브 선택 방법

음성 선택: 2% BSA로 코팅된 닝크 이뮤노 튜브로 각각 30분간 2X

패닝 코팅: 0.1M 탄산나트륨 완충액(pH 9.6) 1ml중의 $1\mu\text{g}$ 의 미오스타틴 단백질로 코팅함

결합 시간: 1시간

세척 조건: 15X 2%-Milk-PBST, 1시간 동안 1X 2%-Milk-PBST, 10X 2%-BSA-PBST, 1시간 동안 1X 2%-BSA-PBST,

10X PBST 및 3X PBS

[0498] 용리 조건: 100 mM TEA 용리

[0499] 제3 라운드 패닝:

[0500] 도입 파지 수: 10^{10} cfu의 파지미드

[0501] 선택 방법: 넝크 이뮤노 튜브 선택 방법

[0502] 음성 선택: 2% BSA로 코팅된 넝크 이뮤노 튜브로 각각 10분간 6X

[0503] 패닝 코팅: 0.1M 탄산나트륨 완충액(pH 9.6) 1ml중의 0.1 μ g의 미오스타틴 단백질로 코팅함

[0504] 결합 시간: 1시간

[0505] 세척 조건: 15X 2%-Milk-PBST, 1시간 동안 1X 2%-Milk-PBST, 10X 2%-BSA-PBST, 1시간 동안 1X 2%-BSA-PBST, 10X PBST 및 3X PBS

[0506] 용리 조건: 100 mM TEA 용리

[0507] 제2의 라이브러리의 패닝으로부터 미오스타틴에 대한 개선된 결합성을 갖는 펩티드들을 획득하였다. 개개의 선택된 클론을 전술한 바와 같이 파지 ELISA한 후 서열분석하였다.

[0508] 하기 친화력-성숙된 TN8-19 계열의 펩티드들을 하기 표 4a 및 4b에 나타내었다:

[0509]

[표 4a]

친화력-성숙된 펩티바디	서열번호	펩티드 서열
mTN8-19-1	305	VALHGQCTRWPWMCPPQREG
mTN8-19-2	306	YPEQGLCTRWPWMCPPQTLA
mTN8-19-3	307	GLNQGHCTRWPWMCPPQDSN
mTN8-19-4	308	MITQGQCTRWPWMCPPQPSG
mTN8-19-5	309	AGAQEHCTRWPWMCAPNDWI
mTN8-19-6	310	GVNQGQCTRWRWMCPPNGWE
mTN8-19-7	311	LADHGQCIRWPWMCPPEGWE
mTN8-19-8	312	ILEQAQCTRWPWMCPPQREG
mTN8-19-9	313	TQTHAQCTRWPWMCPPQWEG
mTN8-19-10	314	VVTQGHCTLWPWMCPPQRWR
mTN8-19-11	315	IYPHDQCTRWPWMCPPQYPY
mTN8-19-12	316	SYWQGQCTRWPWMCPPQWRG
mTN8-19-13	317	MWQQGHCTRWPWMCPPQGWG
mTN8-19-14	318	EFTQWHCTRWPWMCPPQRSQ
mTN8-19-15	319	LDDQWQCTRWPWMCPPQGFS
mTN8-19-16	320	YQTQGLCTRWPWMCPPQSQR
mTN8-19-17	321	ESNQGQCTRWPWMCPPQGGW
mTN8-19-18	322	WTDGPGCTRWPWMCPPQANG
mTN8-19-19	323	VGTQGQCTRWPWMCPPYETG
mTN8-19-20	324	PYEQGKCTRWPWMCPPYEVE
mTN8-19-21	325	SEYQGLCTRWPWMCPPQGWK
mTN8-19-22	326	TFSQGHCTRWPWMCPPQGWG
mTN8-19-23	327	PGAHDHCTRWPWMCPPQSRY
mTN8-19-24	328	VAEEWHCRRWPWMCPPQDWR
mTN8-19-25	329	VGTQGHCTRWPWMCPPQAG
mTN8-19-26	330	EEDQAHCRSWPWMCPPQGWV
mTN8-19-27	331	ADTQGHCTRWPWMCPPQHWF
mTN8-19-28	332	SGPQGHCTRWPWMCAPQGW
mTN8-19-29	333	TLVQGHCTRWPWMCPPQRWV
mTN8-19-30	334	GMAHGKCTRWAWMCPPQSWK
mTN8-19-31	335	ELYHGQCTRWPWMCPPQSWA
mTN8-19-32	336	VADHGHCTRWPWMCPPQGWG
mTN8-19-33	337	PESQGHCTRWPWMCPPQGWG
mTN8-19-34	338	IPAHHCTRWPWMCPPQRWR
mTN8-19-35	339	FTVHGHCTRWPWMCPPYGVV
mTN8-19-36	340	PDFPGHCTRWRWMCPPQWGE
mTN8-19-37	341	QLWQGPCTQWPWMCPPKGRY
mTN8-19-38	342	HANDGHCTRQWMCPPQWGG
mTN8-19-39	343	ETDHGLCTRWPWMCPPYGAR
mTN8-19-40	344	GTWQGLCTRWPWMCPPQGWQ
mTN8-19 con1	345	VATQGQCTRWPWMCPPQGWG
mTN8-19 con2	346	VATQGQCTRWPWMCPPQRWG

[0510]

[0511]

[표 4b]

mTN8 con6-1	347	QREWYPCYGGHLWCYDLHKA
mTN8 con6-2	348	ISAWYSCYAGHFWCWDLKQK
mTN8 con6-3	349	WTGWYQCYGGHLWCYDLRRK
mTN8 con6-4	350	KTFWYPCYDGHFWCYNLKSS
mTN8 con6-5	351	ESRWYPCYEGHLWCFDLTET

[0512]

[0513]

상기 친화력-성숙된 TN8-19-1 내지 Con2(mTN8 con6 서열은 배제)로부터 유래한 공통서열은 $\text{Ca}_1\text{a}_2\text{a}_3\text{WMCPP}$ (서열번호: 352)이다. 이들 펩티드 모두는 서열 WMCPP(서열번호: 633)를 포함한다. 밑줄친 아미노산들은 모든 실시태양에서 존재하는 코어 아미노산을 나타내며, a_1 , a_2 및 a_3 은 중성 소수성, 중성 극성 및 염기성 아미노산으로부터 선택된다. 이러한 공통서열 $\text{Cb}_1\text{b}_2\text{b}_3\text{WMCPP}$ (서열번호: 353)의 한 실시태양에서, b_1 은 아미노산 T, I 및 R 중 어느 하나로부터 선택되고, b_2 는 R, S 및 Q 중 어느 하나로부터 선택되며, b_3 는 P, R 및 Q 중 어느 하나로부터 선택된다. 이러한 펩티드들 모두는 서열 WMCPP(서열번호: 633)를 포함한다. 서열번호: 352를 포함하는 친화력

-성숙된 TN8 서열의 더욱 상세한 분석은 하기 식을 제공한다:

- [0514] $c_1c_2c_3c_4c_5c_6c_7c_8Wc_9WMCPPc_{10}c_{11}c_{12}c_{13}$ (서열번호: 354)(이때,
- [0515] c_1 은 비존재하거나 임의의 아미노산이고;
- [0516] c_2 는 비존재하거나 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 산성 아미노산이며;
- [0517] c_3 는 비존재하거나 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 산성 아미노산이고;
- [0518] c_4 는 비존재하거나 임의의 아미노산이며;
- [0519] c_5 는 비존재하거나 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 산성 아미노산이고;
- [0520] c_6 는 비존재하거나 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 염기성 아미노산이며;
- [0521] c_7 은 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 염기성 아미노산이고;
- [0522] c_8 은 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 염기성 아미노산이며;
- [0523] c_9 은 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 염기성 아미노산이고;
- [0524] c_{10} 내지 c_{13} 은 임의의 아미노산이다).
- [0525] 상기 서열의 한 실시태양에서, c_7 은 아미노산 T, I 및 R 중 어느 하나로부터 선택되고, c_8 은 R, S 및 Q 중 어느 하나로부터 선택되며, c_9 는 P, R 및 Q 중 어느 하나로부터 선택된다. 이는 하기 서열을 제공한다:
- [0526] 서열 $d_1d_2d_3d_4d_5d_6Cd_7d_8Wd_9WMCPPd_{10}d_{11}d_{12}d_{13}$ (서열번호: 355)(이때,
- [0527] d_1 은 비존재하거나 임의의 아미노산이고;
- [0528] d_2 는 비존재하거나 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 산성 아미노산이며;
- [0529] d_3 는 비존재하거나 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 산성 아미노산이고;
- [0530] d_4 는 비존재하거나 임의의 아미노산이며;
- [0531] d_5 는 비존재하거나 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 산성 아미노산이고;
- [0532] d_6 는 비존재하거나 중성 소수성 아미노산, 중성 극성 아미노산 또는 염기성 아미노산이며;
- [0533] d_7 은 아미노산 T, I 및 R 중 어느 하나로부터 선택되고;
- [0534] d_8 은 R, S 및 Q 중 어느 하나로부터 선택되며;
- [0535] d_9 은 P, R 및 Q 중 어느 하나로부터 선택되고;
- [0536] d_{10} 내지 d_{13} 은 임의의 아미노산으로부터 선택된다).
- [0537] mTN8 con6 시리즈의 공통서열은 $WYe_1e_2Ye_3G$ (서열번호: 356)이며, 이때 e_1 은 P, S 또는 Y이고, e_2 는 C 또는 Q이며, e_3 는 G 또는 H이다.
- [0538] TN-19 친화력-성숙된 계열 이외에, 추가적인 친화력-성숙된 펩티드들을 선형 L-2, L-15, L-17, L-20, L-21 및 L-24 제1 라운드 펩티드들로부터 제조하였다. 이들 계열을 하기 표 5a 내지 5c에 제시하였다:

[0539]

[표 5a]

친화력-성숙된 펩티바디	서열번호	펩티드 서열
L2	104	MEMLDSLFELLKDMVPISKA
mL2-Con1	357	RMEMLESLELLKEIVPMSKAG
mL2-Con2	358	RMEMLESLELLKEIVPMSKAR
mL2-1	359	RMEMLESLELLKDIVPMSKPS
mL2-2	360	GMEMLESLELLKEIVPMSKAP
mL2-3	361	RMEMLESLELLKDIVPISNPP
mL2-4	362	RIEMLESLELLKEIVPISKA
mL2-5	363	RMEMLQSLLELLKDIVPMSNAR
mL2-6	364	RMEMLESLELLKEIVPTSNGT
mL2-7	365	RMEMLESLELLKEIVPMSKAG
mL2-8	366	RMEMLGSLELLKEIVPMSKAR
mL2-9	367	QMELLSLFELLKEIVPKSQPA
mL2-10	368	RMEMLDSLELLKEIVPMSNAR
mL2-11	369	RMEMLESLELLHEIVPMSQAG
mL2-12	370	QMEMLESLLQLLKEIVPMSKAS
mL2-13	371	RMEMLDSLELLKDMVPMTTGA
mL2-14	372	RIEMLESLELLKDMVPMANAS
mL2-15	373	RMEMLESLLQLLNEIVPMSRAR
mL2-16	374	RMEMLESLELLKELVPMSKGV
mL2-17	375	RIEMLESLELLKDIVPIQKAR
mL2-18	376	RMELLESLELLKDMVPMSDSS
mL2-19	377	RMEMLESLEVLQEVPRAKGA
mL2-20	378	RMEMLDSLLQLLNEIVPMSHAR
mL2-21	379	RMEMLESLELLKDIVPMSNAG
mL2-22	380	RMEMLQSLFELLKGMVPISKAG
mL2-23	381	RMEMLESLELLKEIVPNSTAA
mL2-24	382	RMEMLQSLLELLKEIVPISKAG
mL2-25	383	RIEMLDSLELLNELVPMSKAR
L-15	117	HHGWNYLRKGSAPQWFEAWV
mL15-con1	384	QVESLQQLMWLDQKLASGPQG
mL15-1	385	RMELLESLELLKEMVPRSKAV
mL15-2	386	QAVSLQHLLMWLDQKLASGPQH
mL15-3	387	DEDSLQQLMWLDQKLASGPQL

[0540]

[0541]

[표 5b]

mL15-4	388	PVASLQQLLIWLDQKLAQGPHA
mL15-5	389	EVDELQQLLNWLDHKLASGPLQ
mL15-6	390	DVESLEQLLMWLDHQLASGPHG
mL15-7	391	QVDSLQQLVLLWLEHKLALGPQV
mL15-8	392	GDESLQHLLMWLEQKLALGPHG
mL15-9	393	QIEMLESLLDLLRDMVPMNSAF
mL15-10	394	EVDSLQQLLMWLDQKLASGPQA
mL15-11	395	EDESLQQLLIYLDKMLSSGPQV
mL15-12	396	AMDQLHQLLIWLDHKLASGPQA
mL15-13	397	RIEMLESLELLDEIALIPKAW
mL15-14	398	EVVSLQHLLMWLEHKLASGPDG
mL15-15	399	GGESLQQLLMWLDQQLASGPQR
mL15-16	400	GVESLQQLLIFLDHMLVSGPHD
mL15-17	401	NVESLEHLLMMWLERLLASGPYA
mL15-18	402	QVDSLQQLLIWLDHQLASGPKR
mL15-19	403	EVESLQQLLMWLEHKLASGPQG
mL15-20	404	EVDSLQQLLMWLDQKLASGPHA
mL15-21	405	EVDSLQQLLMWLDQQLASGPQK
mL15-22	406	GVEQLPQLLMWLEQKLASGPQR
mL15-23	407	GEDSLQQLLMWLDQQLAAGPQV
mL15-24	408	ADDSLQQLLMWLDRLKASGPHV
mL15-25	409	PVDSLQQLLIWLDQKLASGPQG
L-17	419	RATLLKDFWQLVEGYGDN
mL17-con1	410	DWRATLLKEFWQLVEGLGDNLV
mL17-con2	411	QSRATLLKEFWQLVEGLGDKQA
mL17-1	412	DGRATLLTEFWQLVQGLGQKEA
mL17-2	413	LARATLLKEFWQLVEGLGEKVV
mL17-3	414	GSRTLLKEFWQLVVGLGDMQT
mL17-4	415	DARATLLKEFWQLVDAYGDRMV
mL17-5	416	NDRAQLLRDFWQLVDGLGVKSW
mL17-6	417	GVRETLLYELWYLLKGLGANQG
mL17-7	418	QARATLLKEFCQLVGCQGDKLS
mL17-8	419	QERATLLKEFWQLVAGLGQNMR
mL17-9	420	SGRATLLKEFWQLVQGLGEYRW
mL17-10	421	TMRATLLKEFWLFDVGQREMQW
mL17-11	422	GERATLLNDFWQLVDGQGDNTG
mL17-12	423	DERETLLKEFWQLVHGWGDNVA
mL17-13	424	GGRATLLKELWQLLEGQGANLV
mL17-14	425	TARATLLNELVQLVKGYGDKLV
mL17-15	426	GMRATLLQEFWQLVGGQGDNWM
mL17-16	427	STRATLLNDLWQLMKGWAEDRG
mL17-17	428	SERATLLKELWQLVGGWGDNFG
mL17-18	429	VGRATLLKEFWQLVEGLVGQSR
mL17-19	430	EIRATLLKEFWQLVDEWREQPN
mL17-20	431	QLRATLLKEFLQLVHGLGETDS

[0542]

[0543] [표 5c]

mL17-21	432	TQRATLLKEFWQLIEGLGGKHV
mL17-22	433	HYRATLLKEFWQLVDGLREQGV
mL17-23	434	QSRVTLLREFWQLVESYRPIVN
mL17-24	435	LSRATLLNEFWQFVDGQRDKRM
mL17-25	436	WDRATLLNDFWHLMEELSQKPG
mL17-26	437	QERATLLKEFWRMVEGLGKNRG
mL17-27	438	NERATLLREFWQLVGGYGVNQR
L-20	122	YREMSMLEGLLDVLERLQHY
mL20-1	439	HQRDMSMLWELLDVLDGLRQYS
mL20-2	440	TQRDMSMLDGLLEVLDQLRQQR
mL20-3	441	TSRDMSLLWELLEELDRLGHR
mL20-4	442	MQHDSMMLYGLVELLESGLHQI
mL20-5	443	WNRDMRMLESLEFVLDGLRQQV
mL20-6	444	GYRDMSMLEGLLAVLDRLGPQL
mL20 con1	445	TQRDMSMLEGLLEVLDRLGQQR
mL20 con2	446	WYRDMSMLEGLLEVLDRLGQQR
L-21	123	HNSSQMLLSEIMLVGSMQ
mL21-1	447	TQNSRQMLLSDFMMLVGSMIQQ
mL21-2	448	MQTSRHILLSEFMMLVGSMIHG
mL21-3	449	HDNSRQMLLSDDLHLVGTMIQQ
mL21-4	450	MENSRQMLLRELIMLVGNMSHQ
mL21-5	451	QDTSRHMLLREFMMLVGEMIQQ
mL21 con1	452	DQNSRQMLLSDDLMLVGSMIQQ
L-24	126	EFFHWLHNHRSEVNHWLDMN
mL24-1	453	NVFFQWVQKHGRVYQWLDINV
mL24-2	454	FDFLQWLQNHRSEVEHWLVMDV

[0544]

[0545] 표 4a 및 4b 및 표 5a 내지 5c에 제공된 친화력-성숙된 펩티드를 그다음 전술한 바와 같은 펩티마디들과 조합하고 생체내 분석법을 사용하여 분석하였다.

[0546] 친화력-성숙된 L2 펩티드는 $f_1\text{EML}f_2\text{SL}f_3f_4\text{LL}$ (서열번호: 455)의 공통서열을 포함하며, 이때 f_1 은 M 또는 I이고, f_2 는 임의의 아미노산이며, f_3 는 L 또는 F이고, f_4 는 E, Q 또는 D이다.

[0547] 친화력-성숙된 L15 펩티드 계열은 서열 $Lg_1g_2\text{LL}g_3g_4\text{L}$ (서열번호: 456)을 포함하며, 이때 g_1 은 Q, D 또는 E이고, g_2 는 S, Q, D 또는 E이며, g_3 는 임의의 아미노산이고, g_4 는 L, W, F 또는 Y이다. 친화력-성숙된 L17 계열은 서열 $h_1h_2h_3h_4h_5h_6h_7h_8h_9$ (서열번호: 457)을 포함하며, 이때 h_1 은 R 또는 D이고, h_2 는 임의의 아미노산이며, h_3 는 A, T, S 또는 Q이고, h_4 는 L 또는 M이며, h_5 는 L 또는 S이고, h_6 는 임의의 아미노산이며, h_7 은 F 또는 E이고, h_8 은 W, F 또는 C이며, h_9 은 L, F, M 또는 K이다. 공통서열은 또한 상기 mL20, mL21 및 mL24 계열의 펩티드들에 대해서도 결정될 수 있다.

[0548] 펩티마디를 전술한 바와 같은 친화력-성숙된 펩티드들로부터, 상기 실시예 2에 기재된 바와 같이, 서열번호: 296을 갖는 인간 IgG1의 Fc 도메인에 Fc의 N-말단(N 구조), C-말단(C 구조) 또는 N 및 C 말단 둘다(N,C 구조)에서 링커를 사용하여 부착함으로써 구성하였다. 명명된 펩티드들을 5 글리신(5G), 8 글리신 또는 k 링커 서열을 통해 C 또는 N 말단에 부착하였다. 2X 펩티마디 버전에서는, 펩티드들을 5 gly, 8 gly 또는 k와 같은 링커를 사용하여 연결시켰다. 친화력-성숙된 펩티드 및 펩티마디들을 예를 들어 mTN8-19-22와 같이 소문자 "m"으로 표시하였다. 본 발명의 펩티마디들은 추가로 2개의 스플라이스 부위들을 함유하는데, 여기에서 펩티드들은 파지미드 벡터로 스플라이스되었다. 이들 스플라이스 부위들의 위치는 AQ-펩티드-LE이다. 펩티마디들은 일반적으로 이러한 추가의 아미노산들을 포함한다(표들에 개시된 펩티드 서열에는 포함되지 않지만). 몇몇 펩티마디에서, LE 아미노산은 펩티드 서열로부터 제거되었다. 이러한 펩티마디들을 -LE로 표시한다.

[0549] 대표적인 펩티마디들 및 이들을 코딩하는 대표적인 폴리뉴클레오티드 서열을 하기 표 6a 내지 6o에 제공하였다. 이 표는 2x mTN8-19-7(서열번호: 615) 및 LE 서열이 결실된 펩티마디(서열번호: 617)와 같은 펩티마디 서열(펩티드 단독과는 반대로)의 예를 포함한다. 설명하면, 2x 버전의 링커 서열은 탄핵 펩티드 사이의 링커를 지칭한다. 이들 펩티마디 서열은 Fc, 링커, AQ 및 LE 서열을 함유한다. 수반되는 뉴클레오티드 서열은 존재하는 경우 AQ/LE 링커 서열 이외에 펩티드 서열을 코딩하나, 표시된 링커는 코딩하지 않는다.

[0550]

[표 6a]

펩티마디 명칭	펩티드	뉴클레오티드 서열(서열번호)	링커	말단
mL2-Con1	RMEMLESLELLKEI VPMSKAG	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAATGTCTAAAGCTGGT (서열번호: 458)	5 gly	N
mL2-Con2	RMEMLESLELLKEI VPMSKAR	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAATGTCTAAAGCTCGT (서열번호: 459)	5 gly	N
mL2-1	RMEMLESLELLKDI VPMSKPS	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGATATT GTTCCAATGTCTAAACCATCT (서열번호: 460)	5 gly	N
mL2-2	GMEMLESLELLQEI VPMSKAP	GGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTTTTGAACCTCTTCAAGAAATT GTTCCAATGTCTAAAGCTCCA (서열번호: 461)	5 gly	N
mL2-3	RMEMLESLELLKDI VPISNPP	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGATATT GTTCCAATTTCTAATCCACCA (서열번호: 462)	5 gly	N

[0551]

[0552]

[표 6b]

mL2-4	RIEMLESLELLQEI PISKAE	CGTATTGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTCAAGAAATT GTTCCAATTTCTAAAGCTGAA (서열번호: 463)	5 gly	N
mL2-5	RMEMLQSLELLKDI VPMSNAR	CGTATGGAAATGCTTCAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGATATT GTTCCAATGTCTAATGCTCGT (서열번호: 464)	5 gly	N
mL2-6	RMEMLESLELLKEI VPTSNGT	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAACCTCTAATGGTACT (서열번호: 465)	5 gly	N
mL2-7	RMEMLESLELLKEI VPMSKAG	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTTTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAATGTCTAAAGCTGGT (서열번호: 466)	5 gly	N
mL2-8	RMEMLGSLELLKEI VPMSKAR	CGTATGGAAATGCTTGGTTCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAATGTCTAAAGCTCGT (서열번호: 467)	5 gly	N
mL2-9	QMEMLDSLELLKEI VPKSQPA	CAAATGGAACTTCTTGATTCTCT TTTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAAAATCTCAACAGCT (서열번호: 468)	5 gly	N
mL2-10	RMEMLDSLELLKEI VPMSNAR	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAATGTCTAATGCTCGT (서열번호: 469)	5 gly	N
mL2-11	RMEMLESLELLHEI VPMSQAG	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTCATGAAATT GTTCCAATGTCTCAAGCTGGT (서열번호: 470)	5 gly	N
mL2-12	QMEMLESLLQLLKEI VPMSKAS	CAAATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTCAACTCTTAAAGAAATT GTTCCAATGTCTAAAGCTTCT (서열번호: 471)	5 gly	N
mL2-13	RMEMLDSLELLKD MVPMTTGA	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGATATG GTTCCAATGACTACTGGTGCT (서열번호: 472)	5 gly	N
mL2-14	RIEMLESLELLKDM VPMANAS	CGTATTGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGATATG GTTCCAATGGCTAATGCTTCT (서열번호: 473)	5 gly	N
mL2-15	RMEMLESLLQLLNEI VPMSRAR	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTCAACTCTTAAAGAAATT GTTCCAATGTCTCGTGCTCGT (서열번호: 474)	5 gly	N
mL2-16	RMEMLESLELLKEL VPMSKGV	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTTTTGATCTTCTTAAAGAACTT GTTCCAATGTCTAAAGGTGTT (서열번호: 475)	5 gly	N

[0553]

[0554]

[표 6c]

mL2-17	RIEMLESLELLKDIV PIQKAR	CGTATTGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGATATT GTTCCAATTCAAAAAGCTCGT (서열번호: 476)	5 gly	N
mL2-18	RMELESLELLKDM VPMSSDS	CGTATGGAACTCTTGAATCTCT TTTTGAACCTCTTAAAGATATG GTTCCAATGTCTGATTCTCT (서열번호: 477)	5 gly	N
mL2-19	RMELESLEVLQEI VPRAKGA	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAAGTTCTTCAAGAAATT GTTCCACGTGCTAAAGGTGCT (서열번호: 478)	5 gly	N
mL2-20	RMEMLDSLLQLNEI VPMSHAR	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTCAACTCTTAATGAAATT GTTCCAATGTCTCATGCTCGT (서열번호: 479)	5 gly	N
mL2-21	RMELESLELLKDI VPMNSAG	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGATATT GTTCCAATGTCTAATGCTGGT (서열번호: 480)	5 gly	N
mL2-22	RMEMLQSLFELLKG MVPISKAG	CGTATGGAAATGCTTCAATCTC TTTTTGAACCTCTTAAAGGTATG GTTCCAATTTCTAAAGCTGGT (서열번호: 481)	5 gly	N
mL2-23	RMELESLELLKEI VPNSTAA	CGTATGGAAATGCTTGAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAATTTCTACTGTGCT (서열번호: 482)	5 gly	N
mL2-24	RMEMLQSLLELLKEI VPISKAG	CGTATGGAAATGCTTCAATCTC TTCTTGAACCTCTTAAAGAAATT GTTCCAATTTCTAAAGCTGGT (서열번호: 483)	5 gly	N
mL2-25	RIEMLDSLELLNEL VPMASKAR	CGTATTGAAATGCTTGAATCTCT TCTTGAACCTCTTAATGAACCTG TTCCAATGTCTAAAGCTCGT (서열번호: 484)	5 gly	N
mL17-Con1	DWRATLLKEFWQLV EGLGDNLV	GATTGGCGTGCTACTCTTCTTAA AGAATTTTGGCAACTTGTGAA GGTCTTGGTGATAATCTTGTT (서열번호: 485)	5 gly	N
mL17-1	DGRATLLTEFWQLV QGLGQKEA	GATGGTCTGTGCTACTCTTCTTAC TGAATTTTGGCAACTTGTCAA GGTCTTGGTCAAAAAGAGCT (서열번호: 486)	5 gly	N
mL17-2	LARATLLKEFWQLV EGLGEKV	CTTGCTCGTGCTACTCTTCTTAA AGAATTTTGGCAACTTGTGAA GGTCTTGGTGAAAAAGTTGTT (서열번호: 487)	5 gly	N
mL17-3	GSRDTLLKEFWQLV VGLGDMQT	GGTTCTCGTGATACTCTTCTTAA AGAATTTTGGCAACTTGTGTT GGTCTTGGTGATATGCAAACT (서열번호: 488)	5 gly	N

[0555]

[0556]

[표 6d]

mL17-4	DARATLLKEFWQLV DAYGDRMV	GATGCTCGTGCTACTCTTCTTAA AGAAATTTGGCAACTTGTGTGAT GCTTATGGTGATCGTATGGTT (서열번호: 489)	5 gly	N
mL17-5	NDRAQLLRDFWQLV DGLGVKSW	AATGATCGTGCTCAACTTCTTC GTGATTTTGGCAACTTGTGTGAT GGTCTTGGTGTTAAATCTTGG (서열번호: 490)	5 gly	N
mL17-6	GVRETTYELWYLL KGLGANQG	GGTGTTCTGTAACCTCTTCTTA TGAACCTTGGTATCTTCTAAAG GTCTTGGTGCTAATCAAGGT (서열번호: 491)	5 gly	N
mL17-7	QARATLLKEFCQLV GCQGDKLS	CAAGCTCGTGCTACTCTTCTTAA AGAAATTTGTCAACTTGTGTGTT GTCAAGGTGATAAACTTTCT (서열번호: 492)	5 gly	N
mL17-8	QERATLLKEFWQLV AGLGQNMNR	CAAGAACGTGCTACTCTTCTTA AAGAATTTGGCAACTTGTGTGC TGGTCTTGGTCAAAATATGCGT (서열번호: 493)	5 gly	N
mL17-9	SGRATLLKEFWQLV QGLGEYRW	TCTGGTCGTGCTACTCTTCTTAA AGAAATTTGGCAACTTGTTCAA GGTCTTGGTGAATATCGTTGG (서열번호: 494)	5 gly	N
mL17-10	TMRATLLKEFWLFV DGQREMQW	ACTATGCGTGCTACTCTTCTTAA AGAAATTTGGCTTTTGTGTGATG GTCAACGTGAAATGCAATGG (서열번호: 495)	5 gly	N
mL17-11	GERATLLNDFWQLV DGQDNTG	GGTGAACGTGCTACTCTTCTTA ATGATTTTGGCAACTTGTGTGAT GGTCAAGGTGATAATACTGGT (서열번호: 496)	5 gly	N
mL17-12	DERETLLKEFWQLV HGWGDNVA	GATGAACGTGAAACTCTTCTTA AAGAATTTGGCAACTTGTTCAT TGGTTGGGTGATAATGTTGCT (서열번호: 497)	5 gly	N
mL17-13	GGRATLLKELWQLL EGQGANLV	GGTGGTCGTGCTACTCTTCTTAA AGAACTTTGGCAACTTCTTGAA GGTCAAGGTGCTAATCTTGT (서열번호: 498)	5 gly	N
mL17-14	TARATLLNELVQLV KGYGDKLV	ACTGCTCGTGCTACTCTTCTTAA TGAACCTTGTCAACTTGTAAAA GGTTATGGTGATAAACTTGT (서열번호: 499)	5 gly	N
mL17-15	GMRAATLLQEFWQLV GGQGDNWM	GGTATGCGTGCTACTCTTCTTCA AGAAATTTGGCAACTTGTGTGTT GGTCAAGGTGATAATTGGATG (서열번호: 500)	5 gly	N
mL17-16	STRATLLNDLWQLM KGWAEDRG	TCTACTCGTGCTACTCTTCTTAA TGATCTTTGGCAACTTATGAAA GGTTGGGCTGAAGATCGTGGT (서열번호: 501)	5 gly	N

[0557]

[0558]

[표 6e]

mL17-17	SERATLLKELWQLV GGWGDNFG	TCTGAACGTGCTACTCTTCTTAA AGAACTTTGGCAACTTGTGGT GGTTGGGGTGATAATTTTGGT (서열번호: 502)	5 gly	N
mL17-18	VGRATLLKEFWQLV EGLVGQSR	GTTGGTCGTGCTACTCTTCTTAA AGAACTTTGGCAACTTGTGAA GGTCTTGTGGTCAATCTCGT (서열번호: 503)	5 gly	N
2x mTN8-Con6- (N)-1K	M-GAQ- WYPCYEGHFWCYDL - GSGSATGSGSTASS GSGSATG- WYPCYEGHFWCYDL -LE-5G-FC (서열번호: 504)	TGGTATCCGTGTTATGAGGGTC ACTTCTGGTGCTACGATCTGGG TTCTGGTTCCACTGCTTCTCTG GTTCCGGTTCGCTACTGGTTG GTACCGGTGCTACGAAGGTCAC TTTTGGTGTATGATCTG (서열번호: 505)	1K	N
2x mTN8-Con6- (C)-1K	FC-5G-AQ- WYPCYEGHFWCYDL - GSGSATGSGSTASS GSGSATG- WYPCYEGHFWCYDL -LE (서열번호: 506)	TGGTATCCGTGTTATGAGGGTC ACTTCTGGTGCTACGATCTGGG TTCTGGTTCCACTGCTTCTCTG GTTCCGGTTCGCTACTGGTTG GTACCGGTGCTACGAAGGTCAC TTTTGGTGTATGATCTG (서열번호: 507)	1K	C
2x mTN8-Con7- (N)-1K	M-GAQ- IFGCKWWDVQCYQF - GSGSATGSGSTASS GSGSATG- IFGCKWWDVQCYQF -LE-5G-FC (서열번호: 508)	ATCTTTGGCTGTAAGTGGTGGG ACGTTCACTGCTACCAAGTTCGG TTCTGGTTCCACTGCTTCTCTG GTTCCGGTTCGCTACTGGTATC TTCGGTTGCAAGTGGTGGGATG TACAGTGTATCAGTTT (서열번호: 509)	1K	N
2x mTN8-Con7- (C)-1K	FC-5G-AQ- IFGCKWWDVQCYQF - GSGSATGSGSTASS GSGSATG- IFGCKWWDVQCYQF -LE (서열번호: 510)	ATCTTTGGCTGTAAGTGGTGGG ACGTTCACTGCTACCAAGTTCGG TTCTGGTTCCACTGCTTCTCTG GTTCCGGTTCGCTACTGGTATC TTCGGTTGCAAGTGGTGGGATG TACAGTGTATCAGTTT (서열번호: 511)	1K	C
2x mTN8-Con8- (N)-1K	M-GAQ- IFGCKWWDVDCYQF - GSGSATGSGSTASS GSGSATG- IFGCKWWDVDCYQF -LE-5G-FC (서열번호: 512)	ATCTTTGGCTGTAAGTGGTGGG ACGTTGACTGCTACCAAGTTCGG TTCTGGTTCCACTGCTTCTCTG GTTCCGGTTCGCTACTGGTATC TTCGGTTGCAAGTGGTGGGACG TTGATTGTATCAGTTT (서열번호: 513)	1K	N
2x mTN8-Con8- (C)-1K	FC-5G-AQ- IFGCKWWDVDCYQF - GSGSATGSGSTASS GSGSATG- IFGCKWWDVDCYQF -LE (서열번호: 514)	ATCTTTGGCTGTAAGTGGTGGG ACGTTGACTGCTACCAAGTTCGG TTCTGGTTCCACTGCTTCTCTG GTTCCGGTTCGCTACTGGTATC TTCGGTTGCAAGTGGTGGGACG TTGATTGTATCAGTTT (서열번호: 515)	1K	C

[0559]

[0560]

[표 6f]

ML15-Con1	QVESLQQLMWLDQ KLASGPQG	CAGGTTGAATCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGACCAGAA ACTGGCTTCCGGTCCGCAGGGT (서열번호: 516)	5 gly	C
ML15-1	RMELLESFELLKEM VPRSKAV	CGTATGGAAGCTGCTGGAATCCC TGTTGGAAGCTGCTGGAAGAAAT GGTTCGCGTTCCAAAGCTGTT (서열번호: 517)	5 gly	C
mL15-2	QAVSLQHLLMWLDQ KLASGPQH	CAGGCTGTTTCCCTGCAGCACC TGCTGATGTGGCTGGACCAGAA ACTGGCTTCCGGTCCGCAGCAC (서열번호: 518)	5 gly	C
mL15-3	DEDSLQQLMWLDQ KLASGPQL	GACGAAGACTCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGACCAGAA ACTGGCTTCCGGTCCGCAGCTG (서열번호: 519)	5 gly	C
mL15-4	PVASLQQLIWLQK LAQGPFA	CCGGTTGCTTCCCTGCAGCAGC TGCTGATCTGGCTGGACCAGAA ACTGGCTCAGGGTCCGCACGCT (서열번호: 520)	5 gly	C
mL15-5	EVDELQQLNWLHDH KLASGPLQ	GAAGTTGACGAATGCAGCAGC TGCTGAACTGGCTGGACCACAA ACTGGCTTCCGGTCCGCAGCAG (서열번호: 521)	5 gly	C
mL15-6	DVESLEQLMWLDH QLASGPHG	GACGTTGAATCCCTGGAACAGC TGCTGATGTGGCTGGACCACCA GCTGGCTTCCGGTCCGCACGCT (서열번호: 522)	5 gly	C
mL15-7	QVDSLQQVLLWLEH KLALGPQV	CAGGTTGACTCCCTGCAGCAGG TTCTGCTGTGGCTGGAACACAA ACTGGCTCTGGTCCGCAGGTT (서열번호: 523)	5 gly	C
mL15-8	GDESLQHLLMWLEQ KLALGPHG	GGTGACGAATCCCTGCAGCACC TGCTGATGTGGCTGGAACAGAA ACTGGCTCTGGTCCGCACGCT (서열번호: 524)	5 gly	C
mL15-9	QIEMLESLLDLRDM VPMSNAF	CAGATCGAAATGCTGGAATCCC TGCTGGACCTGCTGCGTGACAT GGTTCGATGTCCAACGCTTTC (서열번호: 525)	5 gly	C
mL15-10	EVDSLQQLMWLDQ KLASGPQA	GAAGTTGACTCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGACCAGAA ACTGGCTTCCGGTCCGCAGGCT (서열번호: 526)	5 gly	C
mL15-11	EDESLQQLIYLDKM LSSGPQV	GAAGACGAATCCCTGCAGCAGC TGCTGATCTACCTGGACAAAAT GCTGTCTCCGGTCCGCAGGTT (서열번호: 527)	5 gly	C
mL15-12	AMDQLHQLIWLHDH KLASGPQA	GCTATGGACCAGCTGCACCAGC TGCTGATCTGGCTGGACCACAA ACTGGCTTCCGGTCCGCAGGCT (서열번호: 528)	5 gly	C

[0561]

[0562]

[표 6g]

mL15-13	RIEMLESLELLDEIA LIPKAW	CGTATCGAAATGCTGGAATCCC TGCTGGAAGTCTGGACGAAAT CGCTCTGATCCCGAAAGCTTGG (서열번호: 529)	5 gly	C
mL15-14	EVVSLQHLLMWLEH KLASGPDG	GAAGTTGTTTCCCTGCAGCACC TGCTGATGTGGCTGGAACACAA ACTGGCTTCCGGTCCGCACGGT (서열번호: 530)	5 gly	C
mL15-15	GGESLQQLMWLDQ QLASGPQR	GGTGGTGAATCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGACCAGCA GCTGGCTTCCGGTCCGCACGGT (서열번호: 531)	5 gly	C
mL15-16	GVESLQQLLIFLDHM LVSGPHD	GGTGTGAATCCCTGCAGCAGC TGCTGATCTTCCCTGGACCACAT GCTGGTTCCGGTCCGCACGAC (서열번호: 532)	5 gly	C
mL15-17	NVESLEHLMWLER LLASGPYA	AACGTTGAATCCCTGGAACACC TGATGATGTGGCTGGAACGTCT GCTGGCTTCCGGTCCGTACGCT (서열번호: 533)	5 gly	C
mL15-18	QVDSLQQLLIWLDH QLASGPKR	CAGGTTGACTCCCTGCAGCAGC TGCTGATCTGGCTGGACCACCA GCTGGCTTCCGGTCCGAAACGT (서열번호: 534)	5 gly	C
mL15-19	EVESLQQLMWLEH KLAQGPQG	GAAGTTGAATCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGAACACAA ACTGGCTCAGGTCGCGAGGGT (서열번호: 535)	5 gly	C
mL15-20	EVDSLQQLMWLDQ KLASGPHA	GAAGTTGACTCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGACCAGAA ACTGGCTTCCGGTCCGCACGCT (서열번호: 536)	5 gly	C
mL15-21	EVDSLQQLMWLDQ QLASGPQK	GAAGTTGACTCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGACCAGCA GCTGGCTTCCGGTCCGCAGAAA (서열번호: 537)	5 gly	C
mL15-22	GVEQLPQLMWLEQ KLASGPQR	GGTGTGAACAGCTGCCGCAGC TGCTGATGTGGCTGGAACAGAA ACTGGCTTCCGGTCCGCACGGT (서열번호: 538)	5 gly	C
mL15-23	GEDSLQQLMWLDQ QLAAGPQV	GGTGAAGACTCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGACCAGCA GCTGGCTGCTGGTCCGCAGGTT (서열번호: 539)	5 gly	C
mL15-24	ADDSLQQLMWLDR KLASGPHV	GCTGACGACTCCCTGCAGCAGC TGCTGATGTGGCTGGACCGTAA ACTGGCTTCCGGTCCGCACGTT (서열번호: 540)	5 gly	C
mL15-25	PVDSLQQLLIWLDQK LASGPQG	CCGGTTGACTCCCTGCAGCAGC TGCTGATCTGGCTGGACCAGAA ACTGGCTTCCGGTCCGCAGGGT (서열번호: 541)	5 gly	C

[0563]

[0564]

[표 6h]

mL17-Con2	QSRATLLKEFWQLV EGLGDKQA	CAGTCCCGTGCTACCCTGCTGA AAGAATTCTGGCAGCTGGTTGA AGGTCTGGGTGACAAACAGGCT (서열번호: 542)	5 gly	C
mL17-19	EIRATLLKEFWQLVD EWREQPN	GAAATCCGTGCTACCCTGCTGA AAGAATTCTGGCAGCTGGTTGA CGAATGGCGTGAAACAGCCGAAC (서열번호: 543)	5 gly	C
mL17-20	QLRATLLKEFLQLVH GLGETDS	CAGCTGCGTGCTACCCTGCTGA AAGAATTCCTGCAGCTGGTTCA CGGTCTGGGTGAAACCGACTCC (서열번호: 544)	5 gly	C
mL17-21	TQRATLLKEFWQLIE GLGGKHV	ACCCAGCGTGCTACCCTGCTGA AAGAATTCTGGCAGCTGATCGA AGGTCTGGGTGGTAAACACGTT (서열번호: 545)	5 gly	C
mL17-22	HYRATLLKEFWQLV DGLREQGV	CACTACCGTGCTACCCTGCTGA AAGAATTCTGGCAGCTGGTTGA CGGTCTGCGTGAAACAGGGTGTT (서열번호: 546)	5 gly	C
mL17-23	QSRVTLLEFWQLV ESYRPIVN	CAGTCCCGTGTTACCCTGCTGC GTGAATTCTGGCAGCTGGTTGA ATCCTACCGTCCGATCGTTAAC (서열번호: 547)	5 gly	C
mL17-24	LSRATLLNEFWQFV DGQRDKRM	CTGTCCCGTGCTACCCTGCTGA ACGAATTCTGGCAGTTCTGTTGA CGGTCAGCGTGACAAACGTATG (서열번호: 548)	5 gly	C
mL17-25	WDRATLLNDFWHL MEELSQKPG	TGGGACCGTGCTACCCTGCTGA ACGACTTCTGGCACCTGATGGA AGAACTGTCCCAGAAACCGGGT (서열번호: 549)	5 gly	C
mL17-26	QERATLLKEFWRMV EGLGKNRG	CAGGAACGTGCTACCCTGCTGA AAGAATTCTGGCGTATGGTTGA AGGTCTGGGTAAAAACCGTGGT (서열번호: 550)	5 gly	C
mL17-27	NERATLLREFWQLV GGYGVNQR	AACGAACGTGCTACCCTGCTGC GTGAATTCTGGCAGCTGGTTGG TGGTTACGGTGTTAACACGCGT (서열번호: 551)	5 gly	C
mTN8Con6-1	QREWYPCYGGHLW CYDLHKA	CAGCGTGAATGGTACCCGTGCT ACGGTGGTCACCTGTGGTGCTA CGACCTGCACAAAGCT (서열번호: 552)	5 gly	C
mTN8Con6-2	ISAWYSCYAGHFWC WDLKQK	ATCTCCGCTTGGTACTCCTGCTA CGCTGGTCACTTCTGGTGCTGG GACCTGAAACAGAAA (서열번호: 553)	5 gly	C
mTN8Con6-3	WTGWYQCYGGHLW CYDLRRK	TGGACCGGTTGGTACCAGTGCT ACGGTGGTCACCTGTGGTGCTA CGACCTGCGTCGTAAA (서열번호: 554)	5 gly	C

[0565]

[0566]

[표 6i]

mTN8Con6-4	KTFWYPCYDGHFWC YNLKSS	AAAACCTTCTGGTACCCGTGCT ACGACGGTCACTTCTGGTGCTA CAACCTGAAATCCTCC (서열번호: 555)	5 gly	C
mTN8Con6-5	ESRWYPCYEGHLWC FDLTET	GAATCCCGTTGGTACCCGTGCT ACGAAGGTACCTGTGGTGCTT CGACCTGACCGAAACC (서열번호: 556)	5 gly	C
mL24-1	NVFFQWVQKHGRV VYQWLDINV	AATGTTTTTTTCAATGGGTCA AAAACATGGTCGTGTGTTAT CAATGGCTTGATATTAATGTT (서열번호: 557)	5 gly	C
mL24-2	FDFLQWLQNRSEV EHWLVMDV	TTTGATTTTCTCAATGGCTTCA AAATCATCGTTCTGAAGTTGAA CATTGGCTTGTATGGATGTT (서열번호: 558)	5 gly	C
mL20-1	HQRDMSMLWELLD VLDGLRQYS	CATCAACGTGATATGTCTATGC TTGGGAACCTCTTGATGTTCTT GATGGTCTTCGTCAATATTCT (서열번호: 559)	5 gly	C
mL20-2	TQRDMSMLDGLLEV LDQLRQQR	ACTCAACGTGATATGTCTATGC TTGATGGTCTTCTGAAGTTCTT GATCAACTTCGTCAACAACGT (서열번호: 560)	5 gly	C
mL20-3	TSRDMSLLWELLEEL DRLGHQR	ACCTCCCGTGACATGTCCCTGC TGTGGGAACTGCTGGAAGAACT GGACCGTCTGGGTCAACGCGT (서열번호: 561)	5 gly	C
mL20-4	MQHDMSMLYGLVE LLESLGHI	ATGCAACATGATATGTCTATGC TTTATGGTCTTGTGAAGTTCTT GAATCTCTGGTCATCAAATT (서열번호: 562)	5 gly	C
mL20-5	WNRDMRMLESLEFV LDGLRQV	TGGAATCGTGATATGCGTATGC TTGAATCTCTTTTGAAGTTCTT GATGGTCTTCGTCAACAAGTT (서열번호: 563)	5 gly	C
mL20-6	GYRDMSMLEGLLAV LDRLGPQL	GGTTATCGTGATATGTCTATGCT TGAAGGTCTCTTGCTGTTCTTG ATCGTCTTGGTCCACAACCT (서열번호: 564)	5 gly	C
mL20 Con1	TQRDMSMLEGLLEV LDRLGQQR	ACTCAACGTGATATGTCTATGC TTGAAGGTCTCTTGAAGTTCTT GATCGTCTTGGTCAACAACGT (서열번호: 565)	5 gly	C
mL20 Con2	WYRDMSMLEGLLEV LDRLGQQR	TGGTACCGTGACATGTCCATGC TGGAAGGTCTGCTGGAAGTTCT GGACCGTCTGGGTCAAGCAGCT (서열번호: 566)	5 gly	C
mL21-1	TQNSRQMLLSDFMM LVGSMIQG	ACTCAAAATTCTCGTCAAATGC TTCTTCTGATTTTATGATGCTT GTTGGTCTATGATTCAGGT (서열번호: 567)	5 gly	C

[0567]

[0568]

[표 6j]

mL21-2	MQTSRHILLSEFMML VGSIMHG	ATGCAAACTTCTCGTCATATTCT TCTTTCTGAATTTATGATGCTTG TTGGTTCTATTATGCATGGT (서열번호: 568)	5 gly	C
mL21-3	HDNSRQMLLSDLLH LVGTMIQG	CACGACAACCTCCCGTCAGATGC TGCTGTCCGACCTGCTGCACCT GGTTGGTACCATGATCCAGGGT (서열번호: 569)	5 gly	C
mL21-4	MENSRQNLLRELIML VGNMSHQ	ATGGAAAACCTCCCGTCAGAACC TGCTGCGTGAATGATCATGCT GGTTGGTAACATGTCCCACCAG (서열번호: 570)	5 gly	C
mL21-5	QDTSRHMLLREFMM LVGEMIQG	CAGGACACCTCCCGTCACATGC TGCTGCGTGAATTCATGATGCT GGTTGGTGAAATGATCCAGGGT (서열번호: 571)	5 gly	C
mL21 Con1	DQNSRQMLLSDLMI LVGSMIQA	GACCAGAACCTCCCGTCAGATGC TGCTGTCCGACCTGATGATCCT GGTTGGTTCCATGATCCAGGGT (서열번호: 572)	5 gly	C
mTN8-19-1	VALHGQCTRWPWM CPPQREG	GTGCTCTTCATGGTCAATGTAC TCGTTGGCCATGGATGTGTCCA CCACAACGTGAAGGT (서열번호: 573)	5 gly	C
mTN8-19-2	YPEQGLCTRWPWM PPQTLA	TATCCAGAACAAGGTCTTTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAACTCTTGCT (서열번호: 574)	5 gly	C
mTN8-19-3	GLNQGHCTRWPWM CPPQDSN	GGTCTGAACCAGGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGCAGGACTCCAAC (서열번호: 575)	5 gly	C
mTN8-19-4	MITQGQCTRWPWM CPPQPSG	ATGATTACTCAAGGTCAATGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAACCATCTGGT (서열번호: 576)	5 gly	C
mTN8-19-5	AGAQEHCTRWPWM CAPNDWI	GCTGGTGCTCAGGAACACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCGC TCCGAACGACTGGATC (서열번호: 577)	5 gly	C
mTN8-19-6	GVNQGQCTRWRWM CPPNGWE	GGTGTTAACCAGGGTCAGTGCA CCCGTTGGCGTTGGATGTGCCC GCCGAACGTTGGGAA (서열번호: 578)	5 gly	C
mTN8-19-7	LADHGQCIRWPWM PPEGWE	CTGGCTGACCACGGTCAGTGCA TCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGGAAGGTTGGGAA (서열번호: 579)	5 gly	C
mTN8-19-8	ILEQAQCTRWPWM PPQRGG	ATCCTGGAACAGGCTCAGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGCAGCGTGGTGGT (서열번호: 580)	5 gly	C

[0569]

[0570]

[표 6k]

mTN8-19-9	TQTHAQCTRWPM CPPQWEG	ACTCAAACATCATGCTCAATGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAATGGGAAGGT (서열번호: 581)	5 gly	C
mTN8-19-10	VVTQGHCTLWPWM CPPQRWR	GTTGTTACTCAAGGTCATTGTA CTCTTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAACGTTGGCGT (서열번호: 582)	5 gly	C
mTN8-19-11	IYPHQCTRWPMC PPQYP	ATTTATCCACATGATCAATGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAACCATATCCA (서열번호: 583)	5 gly	C
mTN8-19-12	SYWQGQCTRWPM CPPQWRG	TCTTATTGGCAAGGTCAATGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAATGGCGTGGT (서열번호: 584)	5 gly	C
mTN8-19-13	MWQQGHCTRWPM MCPQGWG	ATGTGGCAACAAGGTCATTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAAGGTTGGGGT (서열번호: 585)	5 gly	C
mTN8-19-14	EFTQWHCTRWPM CPPQRSQ	GAATTCACCCAGTGGCAGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGCAGCGTTCCAG (서열번호: 586)	5 gly	C
mTN8-19-15	LDDQWQCTRWPM CPPQGS	CTGGACGACCAAGTGGCAGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGCAGGGTTCTCC (서열번호: 587)	5 gly	C
mTN8-19-16	YQTQGLCTRWPM CPPQSQR	TATCAAACCTCAAGGTCATTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAATCTCAACGT (서열번호: 588)	5 gly	C
mTN8-19-17	ESNQGQCTRWPM CPPQGGW	GAATCTAATCAAGGTCAATGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAAGGTGGTTGG (서열번호: 589)	5 gly	C
mTN8-19-18	WDRGPCTRWPM CPPQANG	TGGACCGACCGTGGTCCGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGCAGGCTAACGGT (서열번호: 590)	5 gly	C
mTN8-19-19	VGTQGGCTRWPM CPPYETG	GTTGGTACCCAGGGTCAGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGTACGAAACCGGT (서열번호: 591)	5 gly	C
mTN8-19-20	PYEQGKCTRWPM CPPYEVE	CCGTACGAACAGGGTAAATGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGTACGAAGTTGAA (서열번호: 592)	5 gly	C
mTN8-19-21	SEYQGLCTRWPMC PPQGWK	TCCGAATACCAAGGTCTGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCCC GCCGCAGGGTTGAAA (서열번호: 593)	5 gly	C

[0571]

[0572]

[표 61]

mTN8-19-22	TFSQGHCTRWPWMC PPQGWG	ACCTTCTCCCAGGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGGGTTGGGGT (서열번호: 594)	5 gly	C
mTN8-19-23	PGAHDHCTRWPWM CPPQSR	CCGGGTGCTCACGACCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGTCCCGTTAC (서열번호: 595)	5 gly	C
mTN8-19-24	VAEWHCRRWPWM CPPQDWR	GTGCTGAAGAATGGCACTGCC GTCGTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGACTGGCGT (서열번호: 596)	5 gly	C
mTN8-19-25	VGTQGHCTRWPWM CPPQAG	GTGCTACCCAGGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGCCGGCTGGT (서열번호: 597)	5 gly	C
mTN8-19-26	EEDQAHCRWPWM CPPQGWV	GAAGAAGACCAGGCTCACTGCC GTTCTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGGGTTGGGTT (서열번호: 598)	5 gly	C
mTN8-19-27	ADTQGHCTRWPWM CPPQHW	GCTGACACCCAGGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGCACTGGTTC (서열번호: 599)	5 gly	C
mTN8-19-28	SGPQGHCTRWPWM CAPQGW	TCCGTTCCGAGGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC TCCGCAGGGTTGGTTC (서열번호: 600)	5 gly	C
mTN8-19-29	TLVQGHCTRWPWM CPPQRW	ACCCTGGTTCAGGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGCGTTGGGTT (서열번호: 601)	5 gly	C
mTN8-19-30	GMAHGKCTRWA MCPQSWK	GGTATGGCTCACGGTAAATGCA CCCGTTGGGCTTGGATGTGCC GCCGCAGTCTGGAAA (서열번호: 602)	5 gly	C
mTN8-19-31	ELYHGQCTRWPWM CPPQSWA	GAACTGTACCACGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGTCTGGGCT (서열번호: 603)	5 gly	C
mTN8-19-32	VADHGHCTRWPWM CPPQGWG	GTGCTGACCACGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGGGTTGGGGT (서열번호: 604)	5 gly	C
mTN8-19-33	PESQGHCTRWPWM PPQGWG	CCGGAATCCAGGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGGGTTGGGGT (서열번호: 605)	5 gly	C
mTN8-19-34	IPAHHCTRWPWM PPQRWR	ATCCCGGCTCACGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGCAGCGTTGGCGT (서열번호: 606)	5 gly	C

[0573]

[0574]

[표 6m]

mTN8-19-35	FTVHGHCTRWPM CPPYGVV	TTCACCGTTCACGGTCACTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGTACGGTTGGGTT (서열번호: 607)	5 gly	C
mTN8-19-36	PDFPGHCTRWPM PPQGW	CCAGATTTTCCAGGTCATTGTA CTCGTTGGCGTTGGATGTGTCC ACCACAAGGTTGGGAA (서열번호: 608)	5 gly	C
mTN8-19-37	QLWQGPCTQWPWM CPPKGRY	CAGCTGTGGCAGGTCCTGTGCA CCCAGTGGCCGTGGATGTGCC GCCGAAAGGTCGTTAC (서열번호: 609)	5 gly	C
mTN8-19-38	HANDGHCTRWQM CPPQWGG	CACGCTAACGACGGTCACTGCA CCCGTTGGCAGTGGATGTGCC GCCGAGTGGGTTGGT (서열번호: 610)	5 gly	C
mTN8-19-39	ETDHGLCTRWPM CPPYGAR	GAAACCGACACGGTCTGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGTACGGTGCTCGT (서열번호: 611)	5 gly	C
mTN8-19-40	GTWQGLCTRWPM CPPQGWQ	GGTACCTGGCAGGTCCTGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGAGGTTGGCAG (서열번호: 612)	5 gly	C
mTN8-19 Con1	VATQGQCTRWPM CPPQGWG	GTTGCTACCCAGGTCAGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGAGGTTGGGTT (서열번호: 613)	5 gly	C
mTN8-19 Con2	VATQGQCTRWPM CPPQRWG	GTTGCTACCCAGGTCAGTGCA CCCGTTGGCCGTGGATGTGCC GCCGAGGTTGGGTT (서열번호: 614)	5 gly	C
2X mTN8-19-7	FC-5G-AQ- LADHGQCIRWPWM PPEGWELEGSATG SGSTASSGSATG LADHGQCIRWPWM PPEGWE-LE (서열번호: 615)	CTTGCTGATCATGGTCAATGTA TTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCAGAAGGTTGGAACTCGAG GGTTCCCGTTCCGCTACCGGCG GCTCTGGCTCCACTGCTTCTTCC GGTTCCGTTCTGCTACTGGTCT GGCTGACCACGGTCAGTGCATC CGTTGGCCGTGGATGTGCCCGC CGGAAGGTTGGAACTGGAA (서열번호: 616)	1K	C
2X mTN8-19-7 ST-GG del2x LE	FC-5G-AQ- LADHGQCIRWPWM PPEGWEGSGSATGS GGGASSGSATGL ADHGQCIRWPWMCP PEGWE (서열번호: 617)	CTTGCTGATCATGGTCAATGTA TTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCAGAAGGTTGGAAAGGTTCC GGTTCCGCTACCGCGGCTCTG GCGGTGGCGCTTCTCCGGTTC CGGTTCTGCTACTGGTCTGGCT GACCACGGTCAGTGCATCCGTT GGCCGTGGATGTGTCCACCAGA AGGTTGGGAA (서열번호: 618)	1K	C

[0575]

[0576]

[표 6n]

2X mTN8-19-21	FC-5G-AQ- SEYQGLCTRWPWMC PPQGWKLESGSAT GGSGSTASSGSGSAT GSEYQGLCTRWPW MCPPQGWK -LE (서열번호: 619)	TCTGAATATCAAGGTCCTTTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAAGGTTGGAACTCGAG GGTTCCGGTTCCTACCGGCG GCTCTGGCTCCACTGCTTCTTCC GGTTCCGGTTCCTACTGCTGTTT TGAGTATCAAGGCCTCTGTACT CGCTGGCCATGGATGTGTCCAC CACAAGGCTGGAAGCTGGAA (서열번호: 620)	1K	C
2X mTN8-19-21 ST-GG del2x LE	FC-5G-AQ- SEYQGLCTRWPWMC PPQGWKLESGSAT GGSGSTASSGSGSAT EYQGLCTRWPWMC PQGWK (서열번호: 621)	TCTGAATATCAAGGTCCTTTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAAGGTTGGAAAGGTTCC GGTTCCGCTACCGGCGGCTCTG GCGGTGGCGCTTCTCCGGTTC CGGTTCTGCTACTGGTTCTGAGT ATCAAGGCCTCTGTACTCGCTG GCCATGGATGTGTCCACCACAA GGTTGGAA (서열번호: 622)	1K	C
2X mTN8-19-22	FC-5G-AQ- TFSQGHCTRWPWMC PPQGWLESGSAT GGSGSTASSGSGSAT GTFSQGHCTRWPWM CPPQGWG -L E (서열번호: 623)	ACTTTTCTCAAGGTCATTGTAC TCGTTGGCCATGGATGTGTCCA CCACAAGGTTGGGTCTCGAGG GTTCGGTTCCTACCGGCGG CTCTGGCTCCACTGCTTCTTCCG GTTCGGTTCCTACTGCTGTTTCT TTTTCTCAAGGCATTGTACTCG CTGGCCATGGATGTGTCCACCA CAAGGCTGGGCTCTGGAA (서열번호: 624)	1K	C
2X mTN8-19-32	FC-5G-AQ- VADHGHCTRWPWM CPPQGWLESGSAT TGSGSTASSGSGSAT TGVADHGHCTRWP WMCPPQGWG-LE (서열번호: 625)	GTGCTGATCATGGTCATTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAAGGTTGGGTCTCGAG GGTTCCGGTTCGCAACCGGCG GCTCTGGCTCCACTGCTTCTTCC GGTTCCGGTTCCTACTGCTGTT TGCTGACCACGGTCACTGCACC CGTTGGCCGTGGATGTGCCCGC CGCAGGTTGGGTCTGGAA (서열번호: 626)	1K	C
2X mTN8-19-32 ST-GG del2x LE	FC-5G-AQ- VADHGHCTRWPWM CPPQWGGSGSATG GGSGSTASSGSGSAT VADHGHCTRWPV CPPQGWG (서열번호: 627)	GTGCTGATCATGGTCATTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAAGGTTGGGTGGTTTCC GGTTCCGCTACCGGCGGCTCTG GCGGTGGTCTTCTTCCGGTTC GGTTCTGCTACTGCTGTTGCTG ACCACGGTCACTGCACCCGTTG GCCGTGGGTGTGTCCACCACAA GGTTGGGT (서열번호: 628)	1K	C

[0577]

[0578]

[표 6o]

2X mTN8-19-33	FC-5G-AQ- PESQGHCTRWPWMC PPQGWLESGSAT GGSGSTASSGSGSAT GPESQGHCTRWPWM CPPQGWGLE (서열번호: 629)	CCAGAATCTCAAGGTCATTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAAGGTTGGGTCTCGAG GGTTCCGGTTCCTACCGGCG GCTCTGGCTCCACTGCTTCTTCC GGTTCCGGTTCCTACTGCTGTT GGAATCCCAGGTCACCTGCACC CGTTGGCCGTGGATGTGCCCGC CGCAGGTTGGGTCTGGAA (서열번호: 630)	1K	C
2X mTN8-19-33 ST-GG del2x LE	FC-5G-AQ- PESQGHCTRWPWMC PPQWGGSGSATG SGGASSTASSGSGSAT ESQGHCTRWPWMC PQGWG (서열번호: 631)	CCAGAATCTCAAGGTCATTGTA CTCGTTGGCCATGGATGTGTCC ACCACAAGGTTGGGTGGTTCC GGTTCCGCTACCGGCGGCTCTG GCGGTGGTCTTCTCCGGTTC GGTTCTGCTACTGGTCCGGAAT CCCAGGTCACCTGCACCCGTTG GCCGTGGATGTGTCCACCACAA GGTTGGGT (서열번호: 632)	1K	C

[0579]

[0580]

실시예 7

[0581]

친화력-성숙된 펩티마디의 시험관내 스크리닝

[0582]

하기 대표적인 펩티마디들을 전술한 프로토콜에 따라 스크리닝하여 하기 K_D 및 IC_{50} 수치들을 획득하였다. 하기 표 7는 킨엑스 ATM 용액에 기초한 분석법 또는 비아코어(등록상표) 분석법에 의해 측정된 바와 같은, 모펩티마디와 비교하여 선택된 친화력-성숙된 펩티마디들에 대한 K_D 수치의 범위를 보여준다. 이들 수치는 친화력-성숙

된 펩티바디들이 모펩티바디들에 비해 미오스타틴에 대한 결합 친화력이 증가되었음을 증명한다. 하기 표 8은 다수의 친화력-성숙된 펩티바디들에 대한 IC₅₀ 수치들을 보여준다. 수치들의 범위를 이 표에 나타냈다.

[0583]

[표 7]

펩티바디	K _D
TN8-19 (모)	> 1 nM
2xmTN8-19 (모)	> 1 nM
1x mTN8-19-7	10 pM
2x mTN8-19-7	12 pM
1x mTN8-19-21	6 pM
2x mTN8-19-21	6 pM
1x mTN8-19-32	9 pM
1x mTN8-19-33	21 pM
2x mTN8-19-33	3 pM
1x mTN8-19-22	4 pM
1x mTN8-19-con1	20 pM

[0584]

[0585]

[표 8]

친화력-성숙된 펩티바디	IC ₅₀ (nM)
mTN8-19 Con1	1.0 – 4.4
mTN8-19-2	7.508-34.39
mTN8-19-4	16.74
mTN8-19-5	7.743 – 3.495
mTN8-19-6	17.26
mTN8-19-7	1.778
mTN8-19-9	22.96-18.77
mTN8-19-10	5.252 - 7.4
mTN8-19-11	28.66
mTN8-19-12	980.4
mTN8-19-13	20.04
mTN8-19-14	4.065 – 6.556
mTN8-19-16	4.654
mTN8-19-21	2.767-3.602
mTN8-19-22	1.927-3.258
mTN8-19-23	6.584
mTN8-19-24	1.673-2.927
mTN8-19-27	4.837-4.925
mTN8-19-28	4.387
mTN8-19-29	6.358
mTN8-19-32	1.842-3.348
mTN8-19-33	2.146-2.745
mTN8-19-34	5.028 – 5.069
mTN8Con6-3	86.81
mTN8Con6-5	2385
mTN8-19-7(-LE)	1.75-2.677
mTN8-19-21(-LE)	2.49
mTN8-19-33(-LE)	1.808
2xmTN8-19-7	0.8572 -2.649
2xmTN8-19-9	1.316-1.228
2xmTN8-19-14	1.18-1.322
2xmTN8-19-16	0.9903 -1.451
2xmTN8-19-21	0.828 -1.434
2xmTN8-19-22	0.9937-1.22
2xmTN8-19-27	1.601-3.931
2xmTN8-19-7(-LE)	1.077-1.219
2xmTN8-19-21(-LE)	0.8827-1.254
2xmTN8-19-33(-LE)	1.12-1.033
mL2-7	90.24
mL2-9	105.5
mL15-7	32.75
mL15-9	354.2
mL20-2	122.6
mL20-3	157.9
mL20-4	160

[0586]

[0587]

실시예 8

[0588]

대표적인 펩티바디들의 생체내 동화 활성

[0589]

CD1 nu/nu 마우스 모델(찰스 리버 래버러토리즈(Charles River Laboratories), 미국 매사추세츠주)을 사용하여 인간 Fc 영역(huFc)을 포함하는 본 발명의 펩티바디들의 생체내 효능을 측정하였다. 이 모델은 본 발명의 저해제에 대해 급속한 동화 반응으로 반응하였는데, 이는 증가된 근육 건질량 및 근원섬유 단백질의 증가와 관련되었지만 체내 수분 함량의 축적과는 관련되지 않았다.

[0590]

한 예로써, 1x 펩티바디 mTN8-19-21의 생체내 효능을 하기 실험에 의해 증명하였다. 10마리의 8주된 CD1 nu/nu 마우스의 한 군을 1 mg/kg, 3 mg/kg 및 10 mg/kg(피하 주사)의 투여량으로 매주(wk) 2회 또는 1회 처리하였다. 10마리의 8주된 CD1 nu/nu 마우스의 대조군에게는 10mg/kg의 huFc(비히클)을 매주 2회 (피하) 주사하였다. 동물들의 체중을 하루 걸러 측정하고 0일 및 13일째에 NMR에 의해 제지방 체중을 측정하였다. 그다음 동물을 14일째에 희생시키고, 비복근의 크기를 측정하였다. 결과를 도 2 및 3A 및 3B에 나타내었다. 도 2는 다양한 투여량의 펩티바디에 대한 14일에 걸친 마우스의 총 체중의 증가를 대조군과 비교하여 도시한다. 도 2에서 알 수 있는 바와 같이, 모든 투여량에서 대조군에 비해 체중의 증가가 나타났으며, 모든 투여량에서 14일까지 대조군에 비해 통계적으로 유의한 증가가 나타났다. 도 3은 NMR에 의해 측정된 바와 같은 0일 및 13일째의 제지방 체중 변화 뿐만 아니라 14일째에 동물로부터 떼어낸 비복근의 중량 변화를 도시한다.

[0591]

또다른 예로써, 1x mTN8-19-32 펩티바디를 CD1 nu/nu 마우스에게 huFc 대조군(비히클)에 비해 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg 및 30 mg/kg으로 격주로 주사하였다. 펩티바디-처리된 동물들은 총 체중의 증가(도시되지 않음) 뿐만 아니라 NMR 측정법에 의해 측정시 0일째에 비해 13일째에서 제지방 체중의 증가를 나타냈다. 제지방 체중의 증가는 도 4에 도시하였다.

[0592]

또다른 예로써, 1x 친화력-성숙된 펩티바디를 생체내 동화 효과에 대해 2x 친화력-성숙된 펩티바디와 비교하였다. CD1 nu/nu 수컷 마우스(한 군당 10마리의 동물)를 1 mg/kg 및 3 mg/kg의 1x mTN8-19-7 및 2x mTN8-19-7로 35일간 매주 2회 주사하여 처리하는 한편, 대조군(10마리)에게는 huFc(3 mg/kg)를 매주 2회 주사하였다. 도 5에 도시한 바와 같이, 2x 펩티바디로 처리하였을 때 1x 펩티바디 처리군 또는 대조군에 비해 체중 증가가 더 크고 부검시 정육량이 더 많았다.

[0593]

실시예 9

[0594]

근력의 증가

[0595]

나이를 일치시킨 4개월된 정상 수컷 C57B/6 마우스를 매주당 5 mg/kg의 2x mTN8-19-33, 2x mTN8-19-7, 및 대조군의 경우 huFc 비히클(10 동물/군)로 매주당 2회 피하 주사하여 30일간 처리하였다. 동물들을 임의의 추가적인 주사를 하지 않고 회복되도록 놓아두었다. 회복기 18일째에서 잡는 세기를 측정하였다. 잡는 세기는 콜롬비아 인스트루먼트 미터(Columbia Instruments meter), 모델 1027 dsm(미국 오하이오주 콜롬버스)을 사용하여 측정하였다. 펩티바디 처리군에서는 잡는 세기에서 상당한 증가를 나타내었다. 2x mTN8-19-33 전처리된 동물은 대조군-처리된 마우스에 비해 잡는 세기에서 14%의 증가를 나타내었고, 2x mTN8-19-7 처리군에서는 대조군 처리된 마우스에 비해 잡는 세기에서 15%의 증가를 나타내었다.

[0596]

실시예 10

[0597]

약동학

[0598]

생체내 약동학 실험을 LE 서열이 없는 대표적인 펩티바디들을 사용하여 수행하였다. 10 mg/kg 및 5 mg/kg의 투여량을 CD1 nu/nu 마우스에게 투여하고, 하기 변수들을 측정하였다: Cmax($\mu\text{g/mL}$), 곡선하 면적(AUC)($\mu\text{g}\cdot\text{시간/mL}$), 및 반감기(시간). 친화력-성숙된 펩티바디들의 2x 버전은 1x 버전에 비해 상당히 더 긴 반감기를 가짐이 확인되었다. 예를 들어, 1x 친화력-성숙된 mTN8-19-22는 상기 동물에서 약 50.2시간의 반감기를 갖는 반면, 2x mTN8-19-22는 약 85.2시간의 반감기를 가졌다. 친화력-성숙된 1x mTN8-7은 약 65시간의 반감기를 가진 반면, 2x mTN8-19-7은 약 106시간의 반감기를 가졌다.

[0599]

실시예 11

[0600]

mdx 마우스의 처리

[0601]

본 발명의 펩티바디들은 동물에서 제지방 근육량의 증가를 보여주었고, 근육 소모증을 비롯한 다양한 장애들을 치료하는데 유용하다. 근이영양증은 이러한 장애들중 하나이다. 듀시엔형 근이영양증의 마우스 모델은 듀시엔

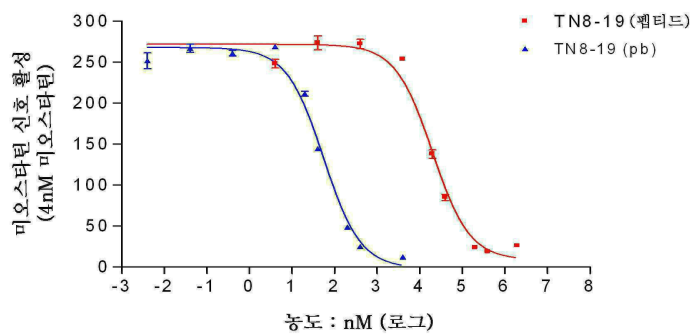
mdx 마우스(잭슨 래버러토리즈(Jackson Laboratories), 미국 메인주 바 하버)이다. 나이든(10개월) *mdx* 마우스에게 펩티바디 1x mTN8-19-33(n=8/군) 또는 비히클 huFc 단백질(N=6/군)을 3개월간 주사하였다. 투여 스케줄은 하루 걸러 10 mg/kg을 피하 주사하는 것이었다. 펩티바디 처리군은 나이든 *mdx* 마우스에서 체중 증가 및 유지에 양성 효과를 나타내었다. 도 6a에서 도시한 바와 같이, hu-Fc-처리 대조군에 비해 펩티바디-처리군에서 체중의 상당한 증가가 관찰되었다. 또한, 도 6b에서 도시한 바와 같이, NMR 분석으로부터, 나이든 *mdx* 마우스에서 체지방 체중 대 지방 질량의 비도 펩티바디 처리시 대조군보다 상당히 증가하였으며, 체중의 지방 %가 대조군에 비해 펩티바디 처리된 마우스에서 감소하였음을 알 수 있었다.

[0602]

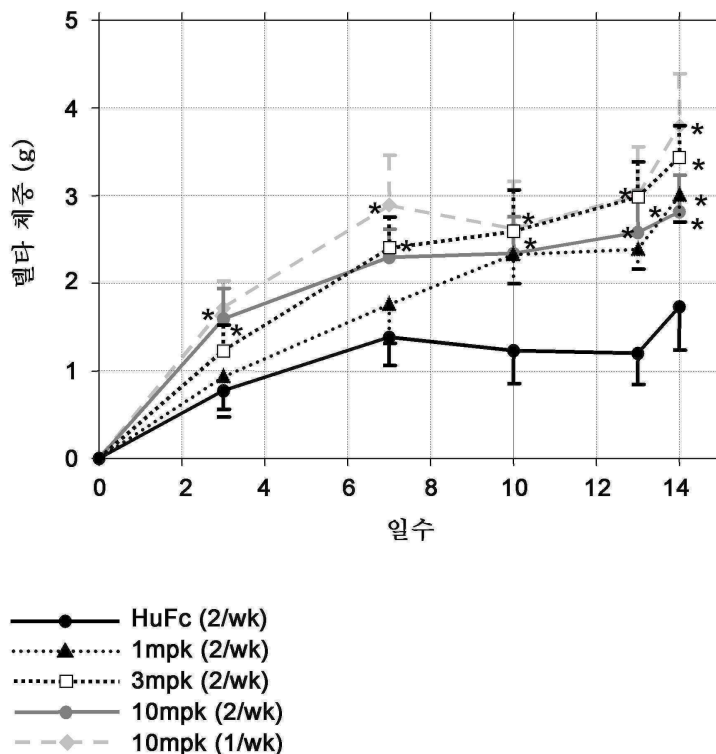
본 발명은 본원에 기재된 특정 실시태양들에 의해 그 범주가 제한되지 않으며, 상기 실시태양들은 본 발명의 개개의 태양들을 단지 예시할 목적으로 제공된 것이고, 기능적으로 동등한 방법과 성분들은 본 발명에 포함된다. 실제로, 당업자라면, 본원에 도시되고 기재된 것들 외에, 본 발명의 다양한 변형을 상기 설명 및 수반하는 도면들로부터 자명하게 이해할 것이다. 이러한 변형을 하기 첨부된 청구의 범위의 범주내에 포함하고자 한다.

도면

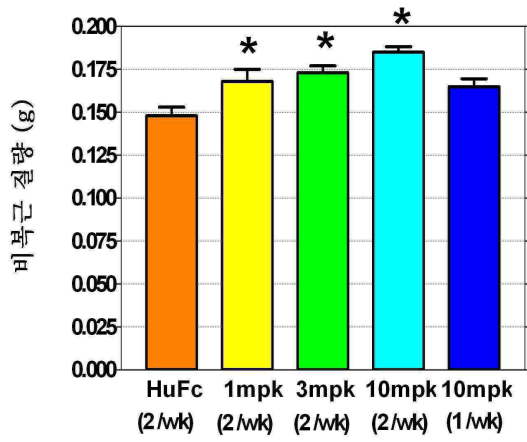
도면1



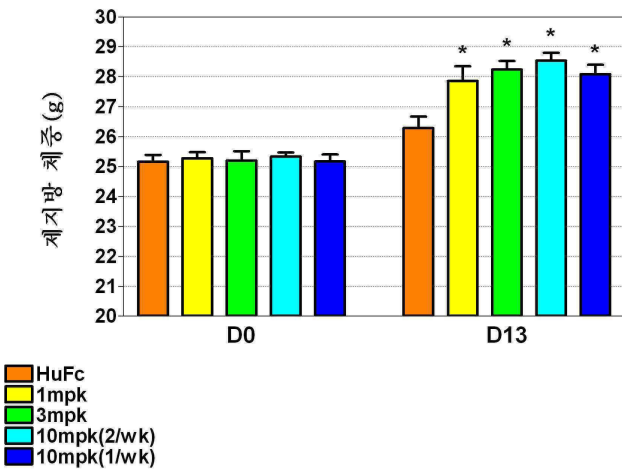
도면2



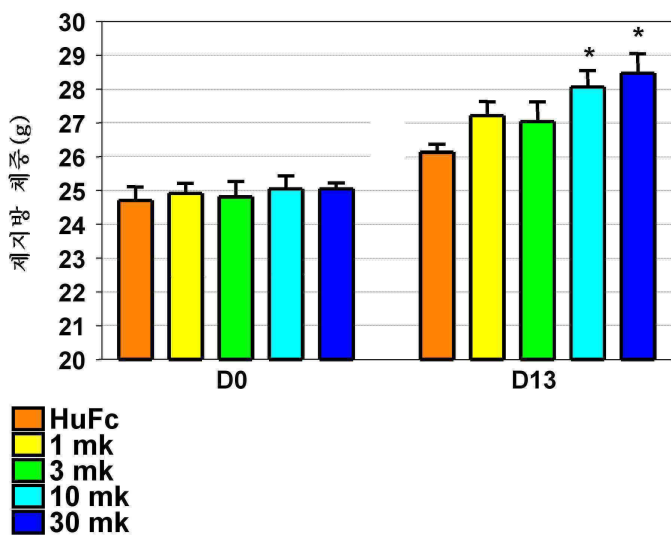
도면3a



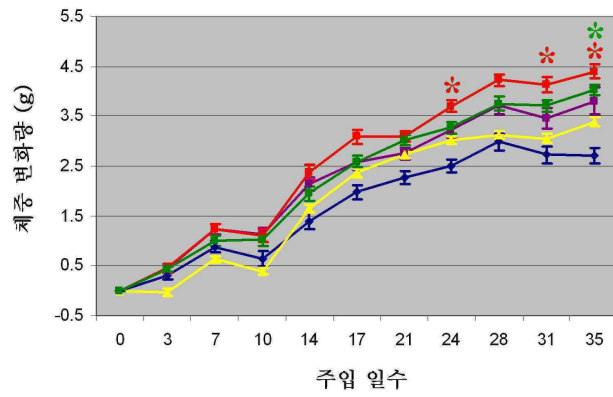
도면3b



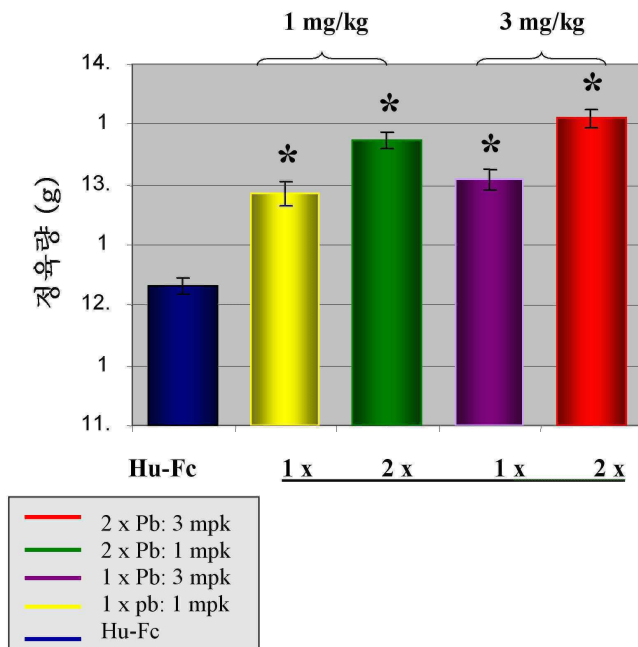
도면4



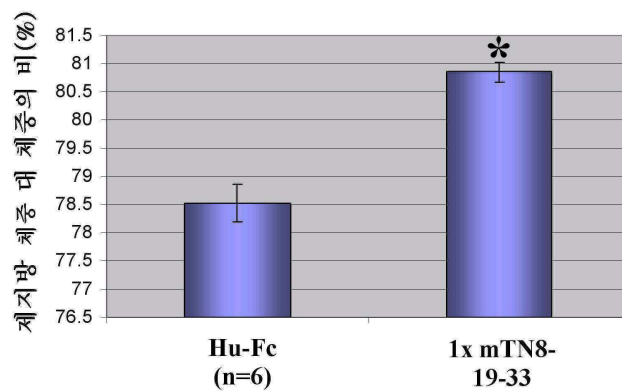
도면5a



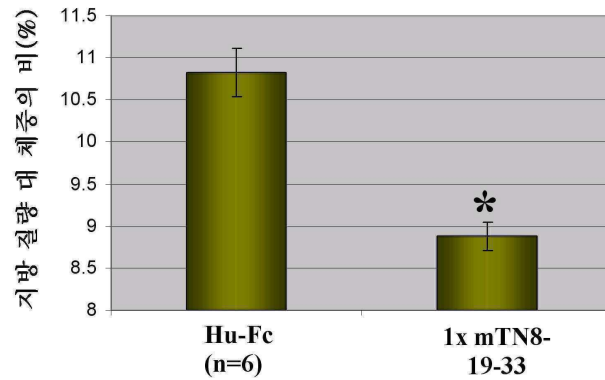
도면5b



도면6a



도면6b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> AMGEN, INC.

Han, HQ

Min, Hosung

Boone, Thomas Charles

<120> BINDING AGENTS WHICH INHIBIT MYOSTATIN

<130> A-828 (WO)

<140> to-be-assigned

<141> 2003-12-19

<150> US 60/435,923

<151> 2002-12-20

<160> 634

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 1

Lys Asp Lys Cys Lys Met Trp His Trp Met Cys Lys Pro Pro

1

5

10

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 2

Lys Asp Leu Cys Ala Met Trp His Trp Met Cys Lys Pro Pro

1 5 10

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 3

Asp Leu Cys Lys Met Trp Lys Trp Met Cys Lys Pro Pro

1 5 10

<210> 4

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 4

Lys Asp Leu Cys Lys Met Trp His Trp Met Cys Lys Pro Lys

1 5 10

<210> 5

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 5

Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Phe His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu

1 5 10

<210> 6

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 6

Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu

1 5 10

<210> 7

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 7

Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp Val Gln Cys Tyr Gln Phe

1 5 10

<210> 8

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 8

Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp Val Asp Cys Tyr Gln Phe

1 5 10

<210> 9

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 9

Ala Asp Trp Cys Val Ser Pro Asn Trp Phe Cys Met Val Met

1 5 10

<210> 10

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 10

His Lys Phe Cys Pro Trp Trp Ala Leu Phe Cys Trp Asp Phe

1 5 10

<210> 11

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 11

Lys Asp Leu Cys Lys Met Trp His Trp Met Cys Lys Pro Pro

1 5 10

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 12

Ile Asp Lys Cys Ala Ile Trp Gly Trp Met Cys Pro Pro Leu

1 5 10

<210> 13

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 13

Trp Tyr Pro Cys Gly Glu Phe Gly Met Trp Cys Leu Asn Val

1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 14

Trp Phe Thr Cys Leu Trp Asn Cys Asp Asn Glu

1 5 10

<210> 15

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 15

His Thr Pro Cys Pro Trp Phe Ala Pro Leu Cys Val Glu Trp

1 5 10

<210> 16

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 16

Lys Glu Trp Cys Trp Arg Trp Lys Trp Met Cys Lys Pro Glu

1 5 10

<210> 17

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400

> 17

Phe Glu Thr Cys Pro Ser Trp Ala Tyr Phe Cys Leu Asp Ile

1 5 10

<210> 18

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 18

Ala Tyr Lys Cys Glu Ala Asn Asp Trp Gly Cys Trp Trp Leu

1 5 10

<210> 19

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 19

Asn Ser Trp Cys Glu Asp Gln Trp His Arg Cys Trp Trp Leu

1 5 10

<210> 20

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 20

Trp Ser Ala Cys Tyr Ala Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu

1 5 10

<210> 21

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 21

Ala Asn Trp Cys Val Ser Pro Asn Trp Phe Cys Met Val Met

1 5 10

<210> 22

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 22

Trp Thr Glu Cys Tyr Gln Gln Glu Phe Trp Cys Trp Asn Leu

1 5 10

<210> 23

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 23

Glu Asn Thr Cys Glu Arg Trp Lys Trp Met Cys Pro Pro Lys

1 5 10

<210> 24

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 24

Trp Leu Pro Cys His Gln Glu Gly Phe Trp Cys Met Asn Phe

1 5 10

<210> 25

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 25

Ser Thr Met Cys Ser Gln Trp His Trp Met Cys Asn Pro Phe

1 5 10

<210> 26

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400>

> 26

Ile Phe Gly Cys His Trp Trp Asp Val Asp Cys Tyr Gln Phe

1 5 10

<210> 27
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 27
 Ile Tyr Gly Cys Lys Trp Trp Asp Ile Gln Cys Tyr Asp Ile
 1 5 10
 <210> 28
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 28
 Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys Phe Trp
 1 5 10
 <210> 29
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 29
 Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Tyr
 1 5 10
 <210> 30
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 30
 Trp Gln Glu Cys Tyr Arg Glu Gly Phe Trp Cys Leu Gln Thr
 1 5 10
 <210> 31

<211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 31
 Trp Phe Asp Cys Tyr Gly Pro Gly Phe Lys Cys Trp Ser Pro
 1 5 10
 <210> 32
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 32
 Gly Val Arg Cys Pro Lys Gly His Leu Trp Cys Leu Tyr Pro
 1 5 10
 <210> 33
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 33
 His Trp Ala Cys Gly Tyr Trp Pro Trp Ser Cys Lys Trp Val
 1 5 10
 <210> 34
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 34
 Gly Pro Ala Cys His Ser Pro Trp Trp Trp Cys Val Phe Gly
 1 5 10
 <210> 35
 <211> 14
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400>

> 35

Thr Thr Trp Cys Ile Ser Pro Met Trp Phe Cys Ser Gln Gln

1 5 10

<210> 36

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 36

His Lys Phe Cys Pro Pro Trp Ala Ile Phe Cys Trp Asp Phe

1 5 10

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 37

Pro Asp Trp Cys Val Ser Pro Arg Trp Tyr Cys Asn Met Trp

1 5 10

<210> 38

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 38

Val Trp Lys Cys His Trp Phe Gly Met Asp Cys Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 39

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 39

Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala Pro Lys

1 5 10

<210> 40

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 40

Trp Phe Gln Cys Gly Ser Thr Leu Phe Trp Cys Tyr Asn Leu

1 5 10

<210> 41

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 41

Trp Ser Pro Cys Tyr Asp His Tyr Phe Tyr Cys Tyr Thr Ile

1 5 10

<210> 42

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 42

Ser Trp Met Cys Gly Phe Phe Lys Glu Val Cys Met Trp Val

1 5 10

<210> 43

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 43
 Glu Met Leu Cys Met Ile His Pro Val Phe Cys Asn Pro His
 1 5 10
 <210> 44
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400>
 > 44
 Leu Lys Thr Cys Asn Leu Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Leu
 1 5 10
 <210> 45
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 45
 Val Val Gly Cys Lys Trp Tyr Glu Ala Trp Cys Tyr Asn Lys
 1 5 10
 <210> 46
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 46
 Pro Ile His Cys Thr Gln Trp Ala Trp Met Cys Pro Pro Thr
 1 5 10
 <210> 47
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 47

Asp Ser Asn Cys Pro Trp Tyr Phe Leu Ser Cys Val Ile Phe

1 5 10

<210> 48

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 48

His Ile Trp Cys Asn Leu Ala Met Met Lys Cys Val Glu Met

1 5 10

<210> 49

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 49

Asn Leu Gln Cys Ile Tyr Phe Leu Gly Lys Cys Ile Tyr Phe

1 5 10

<210> 50

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 50

Ala Trp Arg Cys Met Trp Phe Ser Asp Val Cys Thr Pro Gly

1 5 10

<210> 51

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 51

Trp Phe Arg Cys Phe Leu Asp Ala Asp Trp Cys Thr Ser Val

1 5 10

<210> 52

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 52

Glu Lys Ile Cys Gln Met Trp Ser Trp Met Cys Ala Pro Pro

1 5 10

<210> 53

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400>

> 53

Trp Phe Tyr Cys His Leu Asn Lys Ser Glu Cys Thr Glu Pro

1 5 10

<210> 54

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 54

Phe Trp Arg Cys Ala Ile Gly Ile Asp Lys Cys Lys Arg Val

1 5 10

<210> 55

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 55

Asn Leu Gly Cys Lys Trp Tyr Glu Val Trp Cys Phe Thr Tyr

1 5 10

<210> 56
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 56
 Ile Asp Leu Cys Asn Met Trp Asp Gly Met Cys Tyr Pro Pro
 1 5 10

<210> 57
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 57
 Glu Met Pro Cys Asn Ile Trp Gly Trp Met Cys Pro Pro Val
 1 5 10

<210> 58
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 58
 Trp Phe Arg Cys Val Leu Thr Gly Ile Val Asp Trp Ser Glu Cys Phe
 1 5 10 15
 Gly Leu

<210> 59
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 59
 Trp Phe Arg Cys Val Leu Thr Gly Ile Val Asp Trp Ser Glu Cys Phe

1 5 10 15

Gly Leu

<210> 60

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 60

Leu Pro Trp Cys His Asp Gln Val Asn Ala Asp Trp Gly Phe Cys Met

1 5 10 15

Leu Trp

<210> 61

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 61

Tyr Pro Thr Cys Ser Glu Lys Phe Trp Ile Tyr Gly Gln Thr Cys Val

1 5 10 15

Leu Trp

<210> 62

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 62

Leu Gly Pro Cys Pro Ile His His Gly Pro Trp Pro Gln Tyr Cys Val

1 5 10 15

Tyr Trp

<210> 63

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 63

Pro Phe Pro Cys Glu Thr His Gln Ile Ser Trp Leu Gly His Cys Leu

1 5 10 15

Ser Phe

<210> 64

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 64

His Trp Gly Cys Glu Asp Leu Met Trp Ser Trp His Pro Leu Cys Arg

1 5 10 15

Arg Pro

<210> 65

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 65

Leu Pro Leu Cys Asp Ala Asp Met Met Pro Thr Ile Gly Phe Cys Val

1 5 10 15

Ala Tyr

<210> 66

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 66

Ser His Trp Cys Glu Thr Thr Phe Trp Met Asn Tyr Ala Lys Cys Val

1 5 10 15

His Ala

<210> 67

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 67

Leu Pro Lys Cys Thr His Val Pro Phe Asp Gln Gly Gly Phe Cys Leu

1 5 10 15

Trp Tyr

<210> 68

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 68

Phe Ser Ser Cys Trp Ser Pro Val Ser Arg Gln Asp Met Phe Cys Val

1 5 10 15

Phe Tyr

<210> 69

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 69

Ser His Lys Cys Glu Tyr Ser Gly Trp Leu Gln Pro Leu Cys Tyr Arg

1 5 10 15

Pro

<210> 70

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 70

Pro Trp Trp Cys Gln Asp Asn Tyr Val Gln His Met Leu His Cys Asp

1 5 10 15

Ser Pro

<210> 71

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 71

Trp Phe Arg Cys Met Leu Met Asn Ser Phe Asp Ala Phe Gln Cys Val

1 5 10 15

Ser Tyr

<210> 72

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 72

Pro Asp Ala Cys Arg Asp Gln Pro Trp Tyr Met Phe Met Gly Cys Met

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 73

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 73

Phe Leu Ala Cys Phe Val Glu Phe Glu Leu Cys Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 74

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 74

Ser Ala Tyr Cys Ile Ile Thr Glu Ser Asp Pro Tyr Val Leu Cys Val

1 5 10 15

Pro Leu

<210> 75

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 75

Pro Ser Ile Cys Glu Ser Tyr Ser Thr Met Trp Leu Pro Met Cys Gln

1 5 10 15

His Asn

<210> 76

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 76

Trp Leu Asp Cys His Asp Asp Ser Trp Ala Trp Thr Lys Met Cys Arg

1 5 10 15

Ser His

<210> 77

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 77

Tyr Leu Asn Cys Val Met Met Asn Thr Ser Pro Phe Val Glu Cys Val

1 5 10 15

Phe Asn

<210> 78

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 78

Tyr Pro Trp Cys Asp Gly Phe Met Ile Gln Gln Gly Ile Thr Cys Met

1 5 10 15

Phe Tyr

<210> 79

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 79

Phe Asp Tyr Cys Thr Trp Leu Asn Gly Phe Lys Asp Trp Lys Cys Trp

1 5 10 15

Ser Arg

<210> 80

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 80

Leu Pro Leu Cys Asn Leu Lys Glu Ile Ser His Val Gln Ala Cys Val

1 5 10 15

Leu Phe

<210> 81

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 81

Ser Pro Glu Cys Ala Phe Ala Arg Trp Leu Gly Ile Glu Gln Cys Gln

1 5 10 15

Arg Asp

<210> 82

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 82

Tyr Pro Gln Cys Phe Asn Leu His Leu Leu Glu Trp Thr Glu Cys Asp

1 5 10 15

Trp Phe

<210> 83

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 83

Arg Trp Arg Cys Glu Ile Tyr Asp Ser Glu Phe Leu Pro Lys Cys Trp

1 5 10 15

Phe Phe

<210> 84

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 84

Leu Val Gly Cys Asp Asn Val Trp His Arg Cys Lys Leu Phe

1 5 10

<210> 85

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 85

Ala Gly Trp Cys His Val Trp Gly Glu Met Phe Gly Met Gly Cys Ser

1 5 10 15

Ala Leu

<210> 86

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 86

His His Glu Cys Glu Trp Met Ala Arg Trp Met Ser Leu Asp Cys Val

1 5 10 15

Gly Leu

<210> 87

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 87

Phe Pro Met Cys Gly Ile Ala Gly Met Lys Asp Phe Asp Phe Cys Val

1 5 10 15

Trp Tyr

<210> 88

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 88

Arg Asp Asp Cys Thr Phe Trp Pro Glu Trp Leu Trp Lys Leu Cys Glu

1 5 10 15

Arg Pro

<210> 89

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 89

Tyr Asn Phe Cys Ser Tyr Leu Phe Gly Val Ser Lys Glu Ala Cys Gln

1 5 10 15

Leu Pro

<210> 90

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 90

Ala His Trp Cys Glu Gln Gly Pro Trp Arg Tyr Gly Asn Ile Cys Met

1 5 10 15

Ala Tyr

<210> 91

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 91

Asn Leu Val Cys Gly Lys Ile Ser Ala Trp Gly Asp Glu Ala Cys Ala

1 5 10 15

Arg Ala

<210> 92

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 92

His Asn Val Cys Thr Ile Met Gly Pro Ser Met Lys Trp Phe Cys Trp

1 5 10 15

Asn Asp

<210> 93

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 93

Asn Asp Leu Cys Ala Met Trp Gly Trp Arg Asn Thr Ile Trp Cys Gln

1 5 10 15

Asn Ser

<210> 94

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 94

Pro Pro Phe Cys Gln Asn Asp Asn Asp Met Leu Gln Ser Leu Cys Lys

1 5 10 15

Leu Leu

<210> 95

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 95

Trp Tyr Asp Cys Asn Val Pro Asn Glu Leu Leu Ser Gly Leu Cys Arg

1 5 10 15

Leu Phe

<210> 96

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 96

Tyr Gly Asp Cys Asp Gln Asn His Trp Met Trp Pro Phe Thr Cys Leu

1 5 10 15

Ser Leu

<210> 97

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 97

Gly Trp Met Cys His Phe Asp Leu His Asp Trp Gly Ala Thr Cys Gln

1 5 10 15

Pro Asp

<210> 98

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 98

Tyr Phe His Cys Met Phe Gly Gly His Glu Phe Glu Val His Cys Glu

1 5 10 15

Ser Phe

<210> 99

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 99

Ala Tyr Trp Cys Trp His Gly Gln Cys Val Arg Phe

1 5 10

<

210> 100

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 100

Ser Glu His Trp Thr Phe Thr Asp Trp Asp Gly Asn Glu Trp Trp Val

1 5 10 15

Arg Pro Phe

<210> 101

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 101

Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Asp Met Val Pro

1 5 10 15

Ile Ser Lys Ala

20

<210> 102

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 102

Ser Pro Pro Glu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Gly Trp Gln Tyr Gly

1 5 10 15

Lys Phe Thr

<210> 103

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 103

Ser Pro Glu Asn Leu Leu Asn Asp Leu Tyr Ile Leu Met Thr Lys Gln
1 5 10 15

Glu Trp Tyr Gly
20

<210> 104

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 104

Phe His Trp Glu Glu Gly Ile Pro Phe His Val Val Thr Pro Tyr Ser
1 5 10 15

Tyr Asp Arg Met
20

<210> 105

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 105

Lys Arg Leu Leu Glu Gln Phe Met Asn Asp Leu Ala Glu Leu Val Ser

1 5 10 15

Gly His Ser

<210> 106

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 106

Asp Thr Arg Asp Ala Leu Phe Gln Glu Phe Tyr Glu Phe Val Arg Ser

1 5 10 15

Arg Leu Val Ile

20

<210> 107

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 107

Arg Met Ser Ala Ala Pro Arg Pro Leu Thr Tyr Arg Asp Ile Met Asp

1 5 10 15

Gln Tyr Trp His

20

<210> 108

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 108

Asn Asp Lys Ala His Phe Phe Glu Met Phe Met Phe Asp Val His Asn

1 5 10 15

Phe Val Glu Ser

20

<210> 109

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 109

Gln Thr Gln Ala Gln Lys Ile Asp Gly Leu Trp Glu Leu Leu Gln Ser

1 5 10 15

Ile Arg Asn Gln

20

<210> 110

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 110

Met Leu Ser Glu Phe Glu Glu Phe Leu Gly Asn Leu Val His Arg Gln

1 5 10 15

Glu Ala

<210> 111

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 111

Tyr Thr Pro Lys Met Gly Ser Glu Trp Thr Ser Phe Trp His Asn Arg

1 5 10 15

Ile His Tyr Leu

20

<210> 112

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 112

Leu Asn Asp Thr Leu Leu Arg Glu Leu Lys Met Val Leu Asn Ser Leu

1 5 10 15

Ser Asp Met Lys

20

<210>

> 113

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 113

Phe Asp Val Glu Arg Asp Leu Met Arg Trp Leu Glu Gly Phe Met Gln

1 5 10 15

Ser Ala Ala Thr

20

<210> 114

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 114

His His Gly Trp Asn Tyr Leu Arg Lys Gly Ser Ala Pro Gln Trp Phe

1 5 10 15

Glu Ala Trp Val

20

<210> 115

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 115

Val Glu Ser Leu His Gln Leu Gln Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu Ala

1 5 10 15

Ser Gly Pro His

20

<210> 116

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 116

Arg Ala Thr Leu Leu Lys Asp Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly Tyr Gly

1 5 10 15

Asp Asn

<210> 117

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 117

Glu Glu Leu Leu Arg Glu Phe Tyr Arg Phe Val Ser Ala Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 118

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 118

Gly Leu Leu Asp Glu Phe Ser His Phe Ile Ala Glu Gln Phe Tyr Gln

1 5 10 15

Met Pro Gly Gly

20

<210> 119

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 119

Tyr Arg Glu Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Asp Val Leu Glu Arg

1 5 10 15

Leu Gln His Tyr

20

<210> 120

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 120

His Asn Ser Ser Gln Met Leu Leu Ser Glu Leu Ile Met Leu Val Gly

1 5 10 15

Ser Met Met Gln

20

<210> 121

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 121

Trp Arg Glu His Phe Leu Asn Ser Asp Tyr Ile Arg Asp Lys Leu Ile

1 5 10 15

Ala Ile Asp Gly

20

<210> 122

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 122

Gln Phe Pro Phe Tyr Val Phe Asp Asp Leu Pro Ala Gln Leu Glu Tyr

1 5 10 15

Trp Ile Ala

<210> 123

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 123

Glu Phe Phe His Trp Leu His Asn His Arg Ser Glu Val Asn His Trp

1 5 10 15

Leu Asp Met Asn

20

<210> 124

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 124

Glu Ala Leu Phe Gln Asn Phe Phe Arg Asp Val Leu Thr Leu Ser Glu

1 5 10 15

Arg Glu Tyr

<210> 125

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 125

Gln Tyr Trp Glu Gln Gln Trp Met Thr Tyr Phe Arg Glu Asn Gly Leu

1 5 10 15

His Val Gln Tyr

20

<210> 126

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 126

Asn Gln Arg Met Met Leu Glu Asp Leu Trp Arg Ile Met Thr Pro Met

1 5 10 15

Phe Gly Arg Ser

20

<210> 127

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 127

Phe Leu Asp Glu Leu Lys Ala Glu Leu Ser Arg His Tyr Ala Leu Asp

1 5 10 15

Asp Leu Asp Glu

20

<210> 128

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 128

Gly Lys Leu Ile Glu Gly Leu Leu Asn Glu Leu Met Gln Leu Glu Thr

1 5 10 15

Phe Met Pro Asp

20

<210> 129

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 129

Ile Leu Leu Leu Asp Glu Tyr Lys Lys Asp Trp Lys Ser Trp Phe

1 5 10 15

<210> 130

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 130

Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Tyr Gly Ser

1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

20 25 30

Ser Ala Thr Gly Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro

35 40 45

Pro Tyr

50

<210> 131

<211> 43

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 131

Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu Gly Ser

1 5 10 15

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Trp Tyr Pro

20 25 30

Cys Tyr Glu Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu

35 40

<210> 132

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 132

His Thr Pro Cys Pro Trp Phe Ala Pro Leu Cys Val Glu Trp Gly Ser

1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

20 25 30

Ser Ala Thr Gly His Thr Pro Cys Pro Trp Phe Ala Pro Leu Cys Val

35 40 45

Glu Trp

50

<210> 133

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 133

Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys Phe Trp Gly Ser

1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

20 25 30

Ser Ala Thr Gly Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys

35 40 45

Phe Trp

50

<210> 134

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 134

Ala Asn Trp Cys Val Ser Pro Asn Trp Phe Cys Met Val Met Gly Ser

1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

20 25 30

Ser Ala Thr Gly Ala Asn Trp Cys Val Ser Pro Asn Trp Phe Cys Met

35 40 45

Val Met

50

<210> 135

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 135

Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys Phe Trp Gly Ser

1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

20 25 30

Ser Ala Thr Gly Pro Asp Trp Cys Ile Asp Pro Asp Trp Trp Cys Lys

35 40 45

Phe Trp

50

<210> 136

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 136

His Trp Ala Cys Gly Tyr Trp Pro Trp Ser Cys Lys Trp Val Gly Ser

1 5 10 15

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

20 25 30

Ser Ala Thr Gly His Trp Ala Cys Gly Tyr Trp Pro Trp Ser Cys Lys

35 40 45

Trp Val

50

<210> 137

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 137

Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala Pro Lys Gly Ser
 1 5 10 15
 Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30
 Ser Ala Thr Gly Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro
 35 40 45

Pro Tyr

50

<210> 138

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 138

Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Tyr Gly Ser
 1 5 10 15
 Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30
 Ser Ala Thr Gly Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala
 35 40 45

Pro Lys

50

<210> 139

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 139

Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala Pro Lys Gly Ser
 1 5 10 15
 Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 20 25 30
 Ser Ala Thr Gly Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro

35 40 45

Pro Tyr

50

<210> 140

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 140

Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala Pro Lys Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met

20 25 30

Cys Pro Pro Tyr

35

<210> 141

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 141

Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Tyr Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Lys Lys His Cys Gln Ile Trp Thr Trp Met Cys Ala

20 25 30

Pro Lys

<210> 142

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)
 <223> Xaa = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(6)
 <223> Xaa = any amino acid
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa = any amino acid
 <400> 142
 Lys Asp Xaa Cys Xaa Xaa Trp His Trp Met Cys Lys Pro Xaa
 1 5 10

<210> 143
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(3)
 <223> Xaa = any amino acid
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(7)
 <223>
 > Xaa = any amino acid
 <400> 143
 Trp Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Gly Phe Trp Cys Leu Asn Val
 1 5 10

<210> 144
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(10)

<223> Xaa = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(14)

<223> Xaa = any amino acid

<400> 144

Ile Xaa Gly Cys Xaa Trp Trp Asp Xaa Xaa Cys Tyr Xaa Xaa

1 5 10

<210> 145

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(2)

<223> Xaa = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(14)

<223> Xaa = any amino acid

<400> 145

Xaa Xaa Trp Cys Val Ser Pro Xaa Trp Phe Cys Xaa Xaa Xaa

1 5 10

<210> 146

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(3)

<223> Xaa = any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(10)

<223> Xaa = any amino acid

<400> 146

Xaa Xaa Xaa Cys Pro Trp Phe Ala Xaa Xaa Cys Val Asp Trp

1 5 10

<210> 147

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 147

aaagacaaat gcaaaatgtg gcaactggatg tgcaaaccgc cg 42

<210> 148

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 148

aaagacctgt gcgctatgtg gcaactggatg tgcaaaccgc cg 42

<210> 149

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 149

aaagacctgt gcaaaatgtg gaaatggatg tgcaaaccgc cg 42

<210> 150

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 150

aaagacctgt gcaaaatgtg gcactggatg tgcaaaccga aa 42

<210> 151

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 151

tggtaccctg gctacgaatt ccacttctgg tgctacgacc tg 42

<210> 152

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 152

tggtaccctg gctacgaatt ccacttctgg tgctacgacc tg 42

<210> 153

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 153

tggtaccctg gctacgaagg tcacttctgg tgctacgacc tg 42

<210> 154

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 154

tggtaccctg gctacgaagg tcacttctgg tgctacgacc tg 42

<210> 155
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 155
 atcttcggtt gcaaatggtg ggacgttcag tgctaccagt tc 42
 <210> 156
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 156
 atcttcggtt gcaaatggtg ggacgttgac tgctaccagt tc 42
 <210> 157
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 157
 atcttcggtt gcaaatggtg ggacgttgac tgctaccagt tc 42
 <210> 158
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 158
 gctgactggt gcgtttcccc gaactggttc tgcattggtta tg 42
 <210> 159
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 159
cacaaattct gcccggtgtg ggctctgttc tgctgggact tc 42
<210> 160
<211> 42
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 160
aaagacctgt gcaaaatgtg gcactggatg tgcaaaccgc cg 42
<210> 161
<211> 42
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 161
atcgacaaat gcgctatctg gggttggatg tgcccgcgcg tg 42
<210> 162
<211> 42
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 162
tggtaccctg gcggtgaatt cggtatgtgg tgcctgaacg tt 42
<210> 163
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 163
tggttcacct gcctgtggaa ctgcgacaac gaa 33
<210> 164
<211> 42
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 164

cacaccccggt gcccggtggtt cgctccgctg tgcgttgaat gg 42

<210> 165

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 165

aaagaatggt gctggcggtt gaaatggatg tgcaaaccgg aa 42

<210> 166

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 166

ttcgaaacct gccgctcctg ggcttacttc tgcctggaca tc 42

<210> 167

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 167

ttcgaaacct gccgctcctg ggcttacttc tgcctggaca tc 42

<210> 168

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 168

gcttacaagt gcgaagctaa cgactggggt tgctggtggc tg 42

<210> 169

<211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 169
 aactcctggg gcgaagacca gtggcaccgt tgctggtggc tg 42
 <210> 170
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 170
 tggtcgcgtt gctacgctgg tcacttctgg tgctacgacc tg 42
 <210> 171
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 171
 gctaactggg gcgtttcccc gaactggttc tgcattggtta tg 42
 <210> 172
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 172
 tggaccgaat gctaccagca ggaattctgg tgctggaacc tg 42
 <210> 173
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 173

gaaaacacct gcgaacgttg gaaatggatg tgcccgccga aa 42

<210> 174

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 174

tggtgcccgt gccaccagga aggtttctgg tgcataaact tc 42

<210> 175

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 175

tccaccatgt gctccagtg gcactggatg tgcaaccgt tc 42

<210> 176

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 176

atcttcggtt gccactgggtg ggacgttgac tgctaccagt tc 42

<210> 177

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 177

atctacggtt gcaaatgggtg ggacatccag tgctacgaca tc 42

<210> 178

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 178

ccggactggg gcatcgatcc ggactgggtg tgcaaatctt gg 42

<210> 179

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 179

cagggtcact gcacccgttg gccgtggatg tgcccgcct ac 42

<210> 180

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 180

tggcaggaat gctaccgtga aggtttcttg tgcctgcaga cc 42

<210> 181

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 181

tggttcgact gctacgtgcc gggtttcaaa tgctgggtccc cg 42

<210> 182

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 182

ggtgttcgtt gcccgaaagg tcacctgtgg tgcctgtacc cg 42

<210> 183

<211> 42

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 183
 cactgggctt gcggttactg gccgtggtcc tgcaaatggg tt 42
 <210> 184
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 184
 ggtccggctt gccactcccc gtggtggtgg tgcgttttcg gt 42
 <210> 185
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 185
 accacctggt gcattctccc gatgtggttc tgctcccagc ag 42
 <210> 186
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 186
 cacaattct gcccgccgtg ggctattctc tgctgggact tc 42
 <210> 187
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 187
 ccggactggt gcgtttcccc gcgttggtac tgcaacatgt gg 42

<210> 188
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 188
 gtttggaat gccactggtt cggtatggac tgcgaaccga cc 42

<210> 189
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 189
 aaaaaacact gccagatctg gacctggatg tgcgctccga aa 42

<210> 190
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 190
 tggttccagt gcggttccac cctgttctgg tgctacaacc tg 42

<210> 191
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 191
 tggccccgt gctacgacca ctacttctac tgctacacca tc 42

<210> 192
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 192
 tcctggatgt gcggtttctt caaagaagtt tgcattgtggg tt 42
 <210> 193
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 193
 gaaatgctgt gcatgatcca cccggttttc tgcaaccgc ac 42
 <210> 194
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 194
 ctgaaaacct gcaacctgtg gccgtggatg tgccccccgc tg 42
 <210> 195
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 195
 gttgttggtt gcaaatggtg cgaagcttgg tgctacaaca aa 42
 <210> 196
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 196
 ccgatccact gcaccagtg ggcttggatg tgccccccga cc 42
 <210> 197
 <211> 42
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 197

gaticcaact gcccgtagga cttcctgtcc tgcgttatct tc 42

<210> 198

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 198

gaticcaact gcccgtagga cttcctgtcc tgcgttatct tc 42

<210> 199

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 199

aacctgcagt gcatctactt cctgggtaaa tgcacttact tc 42

<210> 200

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 200

gcttggcggtt gcatgtggtt ctccgacgtt tgcaccccggtt gt 42

<210> 201

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 201

tggtttcgtt gttttcttga tgctgattgg tgtacttctg tt 42

<210> 202

<211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 202
 gaaaaaattt gtcaaatgtg gtcttgatg tgtgctccac ca 42

<210> 203
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 203
 tggttttatt gtcactttaa taaatctgaa tgtactgaac ca 42

<210> 204
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 204
 ttttggcggtt gtgctattgg tattgataaa tgtaaactg tt 42

<210> 205
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 205
 ttttggcggtt gtgctattgg tattgataaa tgtaaactg tt 42

<210> 206
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 206

attgatcttt gtaatatgtg ggatggatg tgttatccac ca 42

<210> 207

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 207

gaaatgcat gtaatatgtg gggttggatg tgtccaccag tt 42

<210> 208

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 208

tggttcggtt gcgttctgac cggatcggt gactgggtcg aatgcttcgg tctg 54

<210> 209

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 209

ggtttctcct gcaccttcgg tctggacgaa ttctacgtg actgctcccc gttc 54

<210> 210

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 210

ctgccgtggt gccacgacca ggtaacgct gactgggggtt tctgcatgct gtgg 54

<210> 211

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 211

taccggacct gctccgaaaa attctggatc tacggtcaga cctgcgttct gtgg 54

<210> 212

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 212

ctgggtccgt gcccgatcca ccacgggccg tggccgcagt actgcgttta ctgg 54

<210> 213

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 213

ccgttcccg gcgaaaccca ccagatctcc tggctgggtc actgcctgtc cttc 54

<210> 214

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 214

cactgggggtt gcgaagacct gatgtgtgcc tggcacccgc tgtgccgtcg tccg 54

<210> 215

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 215

ctgccgctgt gcgacgtga catgatgccg accatcggtt tctgcgttgc ttac 54

<210> 216

<211> 54

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 216
 tcccactggt gcgaaccac cttctggatg aactacgcta aatgcgttca cgct 54

<210> 217
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 217
 ctgccgaat gcaccacgt tccgttcgac cagggtgggt tctgcctgtg gtac 54

<210> 218
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 218
 ttctctctct gctgggtcccc ggtttcccg caggacatgt tctgcgtttt ctac 54

<210> 219
 <211> 51
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 219
 tcccacaaat gcgaatactc cggttggctg cagccgctgt gctaccgtcc g 51

<210> 220
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 220
 ccgtgggtggt gccaggacaa ctacgttcag cacatgctgc actgcgactc cccg 54

<210> 221
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 221
 tggttccggtt gcatgctgat gaactccttc gacgtttcc agtgcgtttc ctac 54

<210> 222
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 222
 ccggacgctt gccgtgacca gccgtgttac atgttcattgg gttgcatgct gggg 54

<210> 223
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 223
 ttctctggctt gcttcgttga attcgaactg tgcttcgact cc 42

<210> 224
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 224
 tccgcttact gcatcatcac cgaatccgac ccgtacgttc tgtgcgttcc gctg 54

<210> 225
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 225
ccgtccatct gcgaatccta ctccaccatg tggtgccga tgtgccagca caac 54
<210> 226
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 226
tggtcggact gccacgacga ctctgggct tggacaaaa tgtgccgttc ccac 54
<210> 227
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 227
tacctgaact gcgttatgat gaacacctcc ccgttcgttg aatgcgtttt caac 54
<210> 228
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 228
taccctgggt gcgacggttt catgatccag cagggtatca cctgcatggt ctac 54
<210> 229
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 229
ttcgactact gcacctggct gaacggtttc aaagactgga aatgctggtc ccgt 54
<210> 230
<211> 54
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 230

ctgccgctgt gcaacctgaa agaaatctcc cacgttcagg cttgcgttct gttc 54

<210> 231

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 231

tccccggaat gcgctttcgc tcgttggctg ggtatcgaac agtgccagcg tgac 54

<210> 232

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 232

taccgcagtg gcttcaacct gcacctgctg gaatggaccg aatgcgactg gttc 54

<210> 233

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 233

cgttggcgtt gcgaaatcta cgactccgaa ttctgccga aatgctggtt cttc 54

<210> 234

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 234

ctggttggtt gcgacaacgt ttggcacctg tgcaaactgt tc 42

<210> 235

<211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 235
 gctggttggt gccacgtttg gggtgaaatg ttcggtatgg gttgctccgc tctg 54
 <210> 236
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 236
 caccacgaat gcgaatggat ggctcgttgg atgtccctgg actgcgttgg tctg 54
 <210> 237
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 237
 ttcccgatgt gcggtatcgc tggatatgaa gacttcgact tctgcgtttg gtac 54
 <210> 238
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 238
 cgtgatgatt gtactttttg gccagaatgg ctttgaaac tttgtgaacg tcca 54
 <210> 239
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 239

tataatTTTT gttcttatct ttttggTgtt tctaaagaag cttgtcaact tcca 54

<210> 240

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 240

gctcattggt gtgaacaagg tccatggcgt tatggtaata tttgtatggc ttat 54

<210> 241

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 241

aatcttggtt gtggtaaaat ttctgcttgg ggtgatgaag cttgtgctcg tgct 54

<210> 242

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 242

cataatgttt gtactattat gggTccatct atgaaatggt tttgttgga tgat 54

<210> 243

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 243

aatgatcttt gtgctatgtg gggTtggcgt aatactattt ggtgtcaaaa ttct 54

<210> 244

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 244

ccaccatttt gtcaaatga taatgatatg cttcaatctc ttgttaaact tctt 54

<210> 245

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 245

tggtatgatt gtaatgttcc aaatgaactt cttctggtc ttgtcgtct tttt 54

<210> 246

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 246

tatggtgatt gtgatcaaaa tcattggatg tggccattta cttgtctttc tctt 54

<210> 247

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 247

ggttggatgt gtcattttga tcttcgatg tggggtgcta cttgtcaacc agat 54

<210> 248

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 248

tattttcatt gtatgtttgg tggatcatgaa ttgaagttc attgtgaatc tttt 54

<210> 249

<211> 36

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 249
 gcttattggt gttggcatgg tcaatgtgtt cgtttt 36
 <210> 250
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 250
 tccgaacact ggaccttcac cgactgggac ggtaacgaat ggtgggttcg tccgttc 57
 <210> 251
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 251
 atggaaatgc tggactccct gttcgaactg ctgaaagaca tggttccgat ctccaaagct 60

<210> 252
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 252
 tccccgccgg aagaagctct gatggaatgg ctgggttggc agtacggtaa attcacc 57
 <210> 253
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 253
 tccccggaaa acctgctgaa cgacctgtac atcctgatga ccaaacagga atggtacggt 60

<210> 254

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 254

ttccactggg aagaaggtat cccgttcac gttgttacc cgtactccta cgaccgtatg 60

<210> 255

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 255

aaacgtctgc tggaacagtt catgaacgac ctggtgaac tggtttccgg tcactcc 57

<210> 256

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 256

gacacccgtg acgtctgtt ccaggaattc tacgaattcg ttcgttcccg tctggttatc 60

<210> 257

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 257

cgtatgtccg ctgctcccg tccgtgacc tacctgaca tcatggacca gtactggcac 60

<210> 258

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 258
aacgacaaag ctcacttctt cgaaatgttc atgttcgacg ttcacaactt cgttgaatcc 60

<210> 259

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 259
cagacccagg ctcagaaaat cgacggtctg tgggaactgc tgcagtcacat ccgtaaccag 60

<210> 260

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 260
atgctgtccg aattcgaaga attcctgggt aacctggttc accgtcagga agct 54

<210> 261

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 261
tacacccga aaatgggttc cgaatggacc tccttctggc acaaccgtat ccactacctg 60

<210> 262

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 262
ctgaacgaca ccctgctgcg tgaactgaaa atggttctga actccctgtc cgacatgaaa 60

<210> 263

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 263

ttcgacgttg aacgtgacct gatgcgttgg ctggaagggt tcatgcagtc cgctgctacc 60

<210> 264

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 264

caccacgggtt ggaactacct gcgtaaaggt tccgctccgc agtggttcga agcttgggtt 60

<210> 265

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 265

gttgaatccc tgcaccagct gcagatgtgg ctggaccaga aactggcttc cggtcgcac 60

<210> 266

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 266

cgtgctaccc tgctgaaaga cttctggcag ctggttgaag gttacggtga caac 54

<210> 267

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 267

gaagaactgc tgcgtgaatt ctaccgtttc gtttccgett tcgactac 48

<210> 268

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 268

ggctctgctgg acgaattctc ccacttcac gctgaacagt tctaccagat gccgggtggt 60

<210> 269

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 269

taccgtgaaa tgtccatgct ggaaggtctg ctggacgttc tggaacgtct gcagcactac 60

<210> 270

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 270

cacaactcct cccagatgct gctgtccgaa ctgatcatgc tggttggttc catgatgcag 60

<210> 271

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 271

tggcgtgaac acttcctgaa ctccgactac atccgtgaca aactgatgc tatcgacggt 60

<210> 272

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 272

cagttcccg tctacgtttt cgacgacctg ccggtcagc tggaatactg gatcgct 57

<210> 273

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 273

gaattcttcc actggctgca caaccaccgt tccgaagtta accactggct ggacatgaac 60

<210> 274

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 274

gaagctcttt ttcaaaattt ttttcgtgat gttcttactc tttctgaacg tgaatat 57

<210> 275

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 275

caatattggg aacaacaatg gatgacttat tttcgtgaaa atggctttca tgttcaatat 60

<210> 276

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 276

aatcaacgta tgatgcttga agatctttgg cgtattatga ctccaatgtt tggtcgttct 60

<210> 277

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 277

tttcttgatg aacttaaagc tgaactttct cgtcattatg ctcttgatga tcttgatgaa 60

<210> 278

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 278

ggtaaaccta ttgaaggctt tcttaaatgaa cttatgcaac ttgaaacttt tatgccagat 60

<210> 279

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 279

attcttcttc ttgatgaata taaaaaagat tggaaatctt gggttt 45

<210> 280

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 280

cagggccact gtactcgtg gccgtggatg tgccccccgt acggttctgg ttccgtacc 60

ggtaggttctg gttccactgc ttcttctggt tccggttctg ctactggtca gggtcactgc 120

actcgttggc catggatgtg tccaccgtat 150

<210> 281

<211> 129

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<

400> 281

tggatccgt gttatgaggg tcacttctgg tgctacgac tgggttctgg ttccactgct 60
 tcttctgggt ccggttccgc tactggttgg taccctgct acgaaggta cttttggtgt 120
 tatgatctg 129
 <210> 282
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 282
 cacactccgt gtccgtggtt tgctccgctg tgcgttgaat ggggttctgg ttccgtact 60
 ggtggttccg gttccactgc ttcttctggt tccggttctg caactggtca caccctgtgc 120

 ccgtggtttg caccgctgtg ttagagtgg 150
 <210> 283
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 283
 ccgattggt gtaacgaccc ggactggtgg tgcaaatct ggggttctgg ttccgtacc 60
 ggtggttccg gttccactgc ttcttctggt tccggttctg caactggtcc ggactggtgc 120
 atcgaaccgg attggtggtg taaattttgg 150
 <210> 284
 <211> 150
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 284
 ccgattggt gtaacgaccc ggactggtgg tgcaaatct ggggttctgg ttccgtacc 60
 ggtggttccg gttccactgc ttcttctggt tccggttctg caactggtcc ggactggtgc 120
 atcgaaccgg attggtggtg taaattttgg 150
 <210> 285
 <211> 129
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 285

accacttggg gcatctctcc gatgtgggtc tgctctcagc agggttcttg ttccactgct 60

tcttctgggt ccggttctgc aactgggtact acttgggtga tctctccaat gtggttttgt 120

tctcagcaa 129

<210> 286

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 286

cactgggcat gtggttatgt gccgtgggtc tgcaaatggg ttggttcttg ttccgtacc 60

gggtggtccg gttccactgc ttcttctggt tccggttctg caactgggtca ctgggttgc 120

ggttactggc cgtggtcttg taaatgggtt 150

<210> 287

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 287

aaaaaacact gtcagatctg gacttggatg tgcgctccga aaggttcttg ttccgtacc 60

gggtggttctg gttccactgc ttcttctggt tccggttccg ctactgggtca gggtcactgc 120

actcgttggc catggatgtg tccgccgtat 150

<210> 288

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<

400> 288

cagggtcact gcaccggttg gccgtggatg tgcccgccgt acggttcttg ttccgtacc 60

gggtggttctg gttccactgc ttcttctggt tccggttctg ctactggtaa aaaacactgc 120

cagatctgga cttggatgtg cgctccgaaa 150

<210> 289

<211> 150

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 289

aaaaaacact gtcagatctg gacttggatg tgcgctccga aaggttctgg ttccgctacc 60

ggtggttctg gttccactgc ttcttctggt tccggttccg ctactggtca gggtcactgc 120

actcgttggc catggatgtg tccgccgtat 150

<210> 290

<211> 108

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 290

aaaaaacact gccagatctg gacttggatg tgcgctccga aaggtggtgg tgggtggtggc 60

ggtggccagg gtcactgcac ccgttggccg tggatgtgtc cgccgtat 108

<210> 291

<211> 102

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<

400> 291

cagggtcact gcacccgttg gccgtggatg tgcccgccgt acggtggtgg tgggtggtggc 60

aaaaaacact gccagatctg gacttggatg tgcgctccga aa 102

<210> 292

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 292

gagagagagc atatgaatga gaacagtgag caaaaag 37

<210> 293
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 293
 agagagggat ccattatgag caccacagc ggtc 34

<210> 294
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 294
 cggcgcaact atcggtatca agctg 25

<210> 295
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 295
 catgtaccgt aacactgagt ttcgtc 26

<210> 296
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 296
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110

 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 297
 <211> 67
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

 <400> 297

acaaacaaac atatgggtgc acagaaagcg gccgcaaaaa aactcgaggg tggaggcgg	60
ggggaca	67
<210> 298	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 298	
ggtcattact ggaccggatc	20
<210> 299	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 299	
cgtacaggtt tacgaagaa aatgg	25
<210> 300	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 300	
tttgttgat ccattactcg agtttttttg cggccgcttt ctgtgcacca ccacctccac	60
ctttac	66
<210> 301	
<211> 681	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 301	
gacaaaactc acacatgtcc accttgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtt	60
ttctctttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	120
tgcggtggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac	180

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240
 cgtgtgttca gcttcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 420

aaccaggitca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 540
 gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 600
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660
 ctctccctgt ctccgggtaa a 681

<210> 302

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400>

> 302

ggtggaggtg gtggt 15

<210> 303

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<400> 303

Met Phe Cys Gly Gly Gly Gly Gly Lys Asp Lys Cys Lys Met Trp His

1 5 10 15

Trp Met Cys Lys Pro Pro

20

<210> 304

<211> 740

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400>

> 304

atggacaaaa ctcacacatg tccaccttgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 60
gttttctctt tcccccaaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 120
acatgcgtgg tggtaggact gagccacgaa gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 180
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 240
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 300
aagtgcgaag tctccaacaa agccctccca gcccctatcg agaaaacat ctccaaagcc 360
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc 420

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggttct atcccagcga catcgccgtg 480
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 540
tccgacggct cttcttctct ctacagcaag ctacacgtgg acaagagcag gtggcagcag 600
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cagcagaag 660
agcctctccc tgtctccggg taaaggtgga ggtggtgta agacaaatgc aaaatgtggc 720
actggatgtg caaacgcccg 740

<210> 305

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 305

Val Ala Leu His Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Arg Glu Gly

20

<210> 306

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 306

Tyr Pro Glu Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Thr Leu Ala

20

<210> 307

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 307

Gly Leu Asn Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Asp Ser Asn

20

<210> 308

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 308

Met Ile Thr Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Pro Ser Gly

20

<210> 309

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 309

Ala Gly Ala Gln Glu His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Ala Pro

1 5 10 15

Asn Asp Trp Ile

20

<210> 310

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 310

Gly Val Asn Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Arg Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Asn Gly Trp Glu

20

<210> 311

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 311

Leu Ala Asp His Gly Gln Cys Ile Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Glu Gly Trp Glu

20

<210> 312

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 312

Ile Leu Glu Gln Ala Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Arg Gly Gly

20

<210> 313

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 313

Thr Gln Thr His Ala Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Trp Glu Gly

20

<210> 314

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 314

Val Val Thr Gln Gly His Cys Thr Leu Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Arg Trp Arg

20

<210> 315

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 315

Ile Tyr Pro His Asp Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Pro Tyr Pro

20

<210> 316

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 316

Ser Tyr Trp Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Trp Arg Gly

20

<210> 317

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 317

Met Trp Gln Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly

20

<210> 318

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 318

Glu Phe Thr Gln Trp His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Arg Ser Gln

20

<210> 319

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 319

Leu Asp Asp Gln Trp Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Phe Ser

20

<210> 320

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 320

Tyr Gln Thr Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Ser Gln Arg

20

<210> 321

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 321

Glu Ser Asn Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Gly Trp

20

<210> 322

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 322

Trp Thr Asp Arg Gly Pro Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Ala Asn Gly

20

<210> 323

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 323

Val Gly Thr Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Tyr Glu Thr Gly

20

<210> 324

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 324

Pro Tyr Glu Gln Gly Lys Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Tyr Glu Val Glu

20

<210> 325

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 325

Ser Glu Tyr Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Lys

20

<210> 326

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 326

Thr Phe Ser Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly

20

<210> 327

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 327

Pro Gly Ala His Asp His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Ser Arg Tyr

20

<210> 328

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 328

Val Ala Glu Glu Trp His Cys Arg Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Asp Trp Arg

20

<210> 329

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 329

Val Gly Thr Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Pro Ala Gly

20

<210> 330

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 330

Glu Glu Asp Gln Ala His Cys Arg Ser Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Val

20

<210> 331

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 331

Ala Asp Thr Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln His Trp Phe

20

<210> 332

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 332

Ser Gly Pro Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Ala Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Phe

20

<210> 333

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 333

Thr Leu Val Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Arg Trp Val

20

<210> 334

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 334

Gly Met Ala His Gly Lys Cys Thr Arg Trp Ala Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Ser Trp Lys

20

<210> 335

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 335

Glu Leu Tyr His Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Ser Trp Ala

20

<210> 336

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 336

Val Ala Asp His Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly

20

<210> 337

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 337

Pro Glu Ser Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly

20

<210> 338

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 338

Ile Pro Ala His Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Arg Trp Arg

20

<210> 339

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 339

Phe Thr Val His Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Tyr Gly Trp Val

20

<210> 340

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 340

Pro Asp Phe Pro Gly His Cys Thr Arg Trp Arg Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Glu

20

<210> 341

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 341

Gln Leu Trp Gln Gly Pro Cys Thr Gln Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Lys Gly Arg Tyr

20

<210> 342

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 342

His Ala Asn Asp Gly His Cys Thr Arg Trp Gln Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Trp Gly Gly

20

<210> 343

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 343

Glu Thr Asp His Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Tyr Gly Ala Arg

20

<210> 344

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 344

Gly Thr Trp Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Gln

20

<210> 345

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 345

Val Ala Thr Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Gly Trp Gly

20

<210> 346

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 346

Val Ala Thr Gln Gly Gln Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Gln Arg Trp Gly

20

<210> 347

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 347

Gln Arg Glu Trp Tyr Pro Cys Tyr Gly Gly His Leu Trp Cys Tyr Asp

1 5 10 15

Leu His Lys Ala

20

<210> 348

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 348

Ile Ser Ala Trp Tyr Ser Cys Tyr Ala Gly His Phe Trp Cys Trp Asp

1 5 10 15

Leu Lys Gln Lys

20

<210> 349

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 349

Trp Thr Gly Trp Tyr Gln Cys Tyr Gly Gly His Leu Trp Cys Tyr Asp

1 5 10 15

Leu Arg Arg Lys

20

<210> 350

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 350

Lys Thr Phe Trp Tyr Pro Cys Tyr Asp Gly His Phe Trp Cys Tyr Asn

1 5 10 15

Leu Lys Ser Ser

20

<210> 351

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 351

Glu Ser Arg Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His Leu Trp Cys Phe Asp

1 5 10 15

Leu Thr Glu Thr

20

<210> 352

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(3)

<223> Xaa is selected from a neutral hydrophobic, neutral polar, or
basic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is selected from a neutral hydrophobic, neutral polar, or

basic amino acid

<400> 352

Cys Xaa Xaa Trp Xaa Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10

<210> 353

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is selected from any one of the amino acids T, I, or R.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is selected from any one of R, S, Q.

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is selected from any one of P, R, and Q.

<400> 353

Cys Xaa Xaa Trp Xaa Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10

<210> 354

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is absent or any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(3)

<223> Xaa is absent or a neutral hydrophobic, neutral polar, or acidic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is absent or any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is absent or a neutral hydrophobic, neutral polar, or acidic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is absent or a neutral hydrophobic, neutral polar, or basic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(9)

<223> Xaa is a neutral hydrophobic, neutral polar, or basic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is a neutral hydrophobic, neutral polar, or basic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(20)

<223> Xaa is any amino acid

<400> 354

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Trp Xaa Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa

20

<210> 355

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is absent or any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(3)

<223> Xaa is absent or a neutral hydrophobic, neutral polar, or acidic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is absent or any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is absent or a neutral hydrophobic, neutral polar, or acidic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is absent or a neutral hydrophobic, neutral polar, or basic amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is selected from any one of the amino acids T, I, or R

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is selected from any one of R, S, Q

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (11)..(11)

<223> Xaa is selected from any one of P, R and Q

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(20)

<223> Xaa is any amino acid

<400> 355

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Trp Xaa Trp Met Cys Pro Pro

1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa

20

<210> 356

```

<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Myostatin Binding Peptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa is P,S or Y
<220><221>
> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa is C or Q
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa is G or H
<400> 356
Trp Tyr Xaa Xaa Tyr Xaa Gly
1          5
<210> 357
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Myostatin Binding Peptide
<400> 357
Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val
1          5          10          15
Pro Met Ser Lys Ala Gly
20
<210> 358

<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Myostatin Binding Peptide
<400> 358
Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val

```

1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Arg

20

<210> 359

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 359

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Pro Ser

20

<210> 360

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 360

Gly Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Phe Glu Leu Leu Gln Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Pro

20

<210> 361

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 361

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val

1 5 10 15

Pro Ile Ser Asn Pro Pro

20

<210> 362

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 362

Arg Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Gln Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Ile Ser Lys Ala Glu

20

<210> 363

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 363

Arg Met Glu Met Leu Gln Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Asn Ala Arg

20

<210> 364

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 364

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Thr Ser Asn Gly Thr

20

<210> 365

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 365

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Gly

20

<210> 366

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 366

Arg Met Glu Met Leu Gly Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Arg

20

<210> 367

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 367

Gln Met Glu Leu Leu Asp Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Lys Ser Gln Pro Ala

20

<210> 368

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 368

Arg Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Asn Ala Arg

20

<210> 369

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 369

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu His Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Gln Ala Gly

20

<210> 370

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 370

Gln Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Gln Leu Leu Lys Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Ser

20

<210> 371

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 371

Arg Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Met Val

1 5 10 15

Pro Met Thr Thr Gly Ala

20

<210> 372

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 372

Arg Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Met Val

1 5 10 15

Pro Met Ala Asn Ala Ser

20

<210> 373

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 373

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Gln Leu Leu Asn Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Arg Ala Arg

20

<210> 374

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 374

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Phe Asp Leu Leu Lys Glu Leu Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Gly Val

20

<210> 375

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 375

Arg Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val

1 5 10 15

Pro Ile Gln Lys Ala Arg

20

<210> 376

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 376

Arg Met Glu Leu Leu Glu Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Asp Met Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Asp Ser Ser

20

<210> 377

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 377

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Val Leu Gln Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Arg Ala Lys Gly Ala

20

<210> 378

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 378

Arg Met Glu Met Leu Asp Ser Leu Leu Gln Leu Leu Asn Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser His Ala Arg

20

<210> 379

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 379

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Asp Ile Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Asn Ala Gly

20

<210> 380

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 380

Arg Met Glu Met Leu Gln Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Gly Met Val

1 5 10 15

Pro Ile Ser Lys Ala Gly

20

<210> 381

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 381

Arg Met Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Asn Ser Thr Ala Ala

20

<210> 382

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 382

Arg Met Glu Met Leu Gln Ser Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Ile Val

1 5 10 15

Pro Ile Ser Lys Ala Gly

20

<210> 383

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 383

Arg Ile Glu Met Leu Asp Ser Leu Leu Glu Leu Leu Asn Glu Leu Val

1 5 10 15

Pro Met Ser Lys Ala Arg

20

<210> 384

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 384

Gln Val Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Gly

20

<210> 385

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 385

Arg Met Glu Leu Leu Glu Ser Leu Phe Glu Leu Leu Lys Glu Met Val

1 5 10 15

Pro Arg Ser Lys Ala Val

20

<210> 386

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 386

Gln Ala Val Ser Leu Gln His Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln His

20

<210> 387

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 387

Asp Glu Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Leu

20

<210> 388

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 388

Pro Val Ala Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Trp Leu Asp Gln Lys Leu

1 5 10 15

Ala Gln Gly Pro His Ala

20

<210> 389

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 389

Glu Val Asp Glu Leu Gln Gln Leu Leu Asn Trp Leu Asp His Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Leu Gln

20

<210> 390

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 390

Asp Val Glu Ser Leu Glu Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp His Gln Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro His Gly

20

<210> 391

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 391

Gln Val Asp Ser Leu Gln Gln Val Leu Leu Trp Leu Glu His Lys Leu

1	5	10	15
Ala Leu Gly Pro Gln Val			
20			
<210>	392		
<211>	22		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Myostatin Binding Peptide		
<400>	392		
Gly Asp Glu Ser Leu Gln His Leu Leu Met Trp Leu Glu Gln Lys Leu			
1	5	10	15
Ala Leu Gly Pro His Gly			
20			
<210>	393		
<211>	22		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Myostatin Binding Peptide		
<400>	393		
Gln Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Asp Leu Leu Arg Asp Met Val			
1	5	10	15
Pro Met Ser Asn Ala Phe			
20			
<210>	394		
<211>	22		
<212>	PRT		
<213>	Artificial Sequence		
<220><223>	Myostatin Binding Peptide		
<400>	394		
Glu Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu			
1	5	10	15
Ala Ser Gly Pro Gln Ala			
20			

<210> 395

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 395

Glu Asp Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Asp Lys Met Leu

1 5 10 15

Ser Ser Gly Pro Gln Val

20

<210> 396

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 396

Ala Met Asp Gln Leu His Gln Leu Leu Ile Trp Leu Asp His Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Ala

20

<210> 397

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 397

Arg Ile Glu Met Leu Glu Ser Leu Leu Glu Leu Leu Asp Glu Ile Ala

1 5 10 15

Leu Ile Pro Lys Ala Trp

20

<210> 398

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 398

Glu Val Val Ser Leu Gln His Leu Leu Met Trp Leu Glu His Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Asp Gly

20

<210> 399

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 399

Gly Gly Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Gln Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Arg

20

<210> 400

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 400

Gly Val Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Phe Leu Asp His Met Leu

1 5 10 15

Val Ser Gly Pro His Asp

20

<210> 401

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 401

Asn Val Glu Ser Leu Glu His Leu Met Met Trp Leu Glu Arg Leu Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Tyr Ala

20

<210> 402

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 402

Gln Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Trp Leu Asp His Gln Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Lys Arg

20

<210> 403

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 403

Glu Val Glu Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Glu His Lys Leu

1 5 10 15

Ala Gln Gly Pro Gln Gly

20

<210> 404

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 404

Glu Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro His Ala

20

<210> 405

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 405

Glu Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Gln Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Lys

20

<210> 406

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 406

Gly Val Glu Gln Leu Pro Gln Leu Leu Met Trp Leu Glu Gln Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Arg

20

<210> 407

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 407

Gly Glu Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Gln Gln Leu

1 5 10 15

Ala Ala Gly Pro Gln Val

20

<210> 408

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 408

Ala Asp Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Met Trp Leu Asp Arg Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro His Val

20

<210> 409

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 409

Pro Val Asp Ser Leu Gln Gln Leu Leu Ile Trp Leu Asp Gln Lys Leu

1 5 10 15

Ala Ser Gly Pro Gln Gly

20

<210> 410

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 410

Asp Trp Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly

1 5 10 15

Leu Gly Asp Asn Leu Val

20

<210> 411

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 411

Gln Ser Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly

1 5 10 15

Leu Gly Asp Lys Gln Ala

20

<210> 412

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 412

Asp Gly Arg Ala Thr Leu Leu Thr Glu Phe Trp Gln Leu Val Gln Gly

1 5 10 15

Leu Gly Gln Lys Glu Ala

20

<210> 413

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 413

Leu Ala Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly

1 5 10 15

Leu Gly Glu Lys Val Val

20

<210> 414

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 414

Gly Ser Arg Asp Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Val Gly

1 5 10 15

Leu Gly Asp Met Gln Thr

20

<210> 415

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 415

Asp Ala Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Asp Ala

1 5 10 15

Tyr Gly Asp Arg Met Val

20

<210> 416

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 416

Asn Asp Arg Ala Gln Leu Leu Arg Asp Phe Trp Gln Leu Val Asp Gly

1 5 10 15

Leu Gly Val Lys Ser Trp

20

<210> 417

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 417

Gly Val Arg Glu Thr Leu Leu Tyr Glu Leu Trp Tyr Leu Leu Lys Gly

1 5 10 15

Leu Gly Ala Asn Gln Gly

20

<210> 418

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 418

Gln Ala Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Cys Gln Leu Val Gly Cys

1 5 10 15

Gln Gly Asp Lys Leu Ser

20

<210> 419

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 419

Gln Glu Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Ala Gly

1 5 10 15

Leu Gly Gln Asn Met Arg

20

<210> 420

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 420

Ser Gly Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Gln Gly

1 5 10 15

Leu Gly Glu Tyr Arg Trp

20

<210> 421

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 421

Thr Met Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Leu Phe Val Asp Gly

1 5 10 15

Gln Arg Glu Met Gln Trp

20

<210> 422

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 422

Gly Glu Arg Ala Thr Leu Leu Asn Asp Phe Trp Gln Leu Val Asp Gly

1 5 10 15

Gln Gly Asp Asn Thr Gly

20

<210> 423

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 423

Asp Glu Arg Glu Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val His Gly

1 5 10 15

Trp Gly Asp Asn Val Ala

20

<210> 424

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 424

Gly Gly Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Leu Trp Gln Leu Leu Glu Gly

1 5 10 15

Gln Gly Ala Asn Leu Val

20

<210> 425

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 425

Thr Ala Arg Ala Thr Leu Leu Asn Glu Leu Val Gln Leu Val Lys Gly

1 5 10 15

Tyr Gly Asp Lys Leu Val

20

<210> 426

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 426

Gly Met Arg Ala Thr Leu Leu Gln Glu Phe Trp Gln Leu Val Gly Gly

1 5 10 15

Gln Gly Asp Asn Trp Met

20

<210> 427

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 427

Ser Thr Arg Ala Thr Leu Leu Asn Asp Leu Trp Gln Leu Met Lys Gly

1 5 10 15

Trp Ala Glu Asp Arg Gly

20

<210> 428

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 428

Ser Glu Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Leu Trp Gln Leu Val Gly Gly

1 5 10 15

Trp Gly Asp Asn Phe Gly

20

<210> 429

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 429

Val Gly Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Gly

1 5 10 15

Leu Val Gly Gln Ser Arg

20

<210> 430

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 430

Glu Ile Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Asp Glu

1 5 10 15

Trp Arg Glu Gln Pro Asn

20

<210> 431

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 431

Gln Leu Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Leu Gln Leu Val His Gly

1 5 10 15

Leu Gly Glu Thr Asp Ser

20

<210> 432

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 432

Thr Gln Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Ile Glu Gly

1 5 10 15

Leu Gly Gly Lys His Val

20

<210> 433

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 433

His Tyr Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Gln Leu Val Asp Gly

1 5 10 15

Leu Arg Glu Gln Gly Val

20

<210> 434

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 434

Gln Ser Arg Val Thr Leu Leu Arg Glu Phe Trp Gln Leu Val Glu Ser

1 5 10 15

Tyr Arg Pro Ile Val Asn

20

<210> 435

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 435

Leu Ser Arg Ala Thr Leu Leu Asn Glu Phe Trp Gln Phe Val Asp Gly

1 5 10 15

Gln Arg Asp Lys Arg Met

20

<210> 436

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 436

Trp Asp Arg Ala Thr Leu Leu Asn Asp Phe Trp His Leu Met Glu Glu

1 5 10 15

Leu Ser Gln Lys Pro Gly

20

<210> 437

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 437

Gln Glu Arg Ala Thr Leu Leu Lys Glu Phe Trp Arg Met Val Glu Gly

1 5 10 15

Leu Gly Lys Asn Arg Gly

20

<210> 438

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 438

Asn Glu Arg Ala Thr Leu Leu Arg Glu Phe Trp Gln Leu Val Gly Gly

1 5 10 15

Tyr Gly Val Asn Gln Arg

20

<210> 439

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 439

His Gln Arg Asp Met Ser Met Leu Trp Glu Leu Leu Asp Val Leu Asp

1 5 10 15

Gly Leu Arg Gln Tyr Ser

20

<210> 440

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 440

Thr Gln Arg Asp Met Ser Met Leu Asp Gly Leu Leu Glu Val Leu Asp

1 5 10 15

Gln Leu Arg Gln Gln Arg

20

<210> 441

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 441

Thr Ser Arg Asp Met Ser Leu Leu Trp Glu Leu Leu Glu Glu Leu Asp

1 5 10 15

Arg Leu Gly His Gln Arg

20

<210> 442

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 442

Met Gln His Asp Met Ser Met Leu Tyr Gly Leu Val Glu Leu Leu Glu

1 5 10 15

Ser Leu Gly His Gln Ile

20

<210> 443

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 443

Trp Asn Arg Asp Met Arg Met Leu Glu Ser Leu Phe Glu Val Leu Asp

1 5 10 15

Gly Leu Arg Gln Gln Val

20

<210> 444

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 444

Gly Tyr Arg Asp Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Ala Val Leu Asp

1 5 10 15

Arg Leu Gly Pro Gln Leu

20

<210> 445

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 445

Thr Gln Arg Asp Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Glu Val Leu Asp

1 5 10 15

Arg Leu Gly Gln Gln Arg

20

<210> 446

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 446

Trp Tyr Arg Asp Met Ser Met Leu Glu Gly Leu Leu Glu Val Leu Asp

1 5 10 15

Arg Leu Gly Gln Gln Arg

20

<210> 447

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 447

Thr Gln Asn Ser Arg Gln Met Leu Leu Ser Asp Phe Met Met Leu Val

1 5 10 15

Gly Ser Met Ile Gln Gly

20

<210> 448

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 448

Met Gln Thr Ser Arg His Ile Leu Leu Ser Glu Phe Met Met Leu Val

1 5 10 15

Gly Ser Ile Met His Gly

20

<210> 449

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 449

His Asp Asn Ser Arg Gln Met Leu Leu Ser Asp Leu Leu His Leu Val

1 5 10 15

Gly Thr Met Ile Gln Gly

20

<210> 450

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 450

Met Glu Asn Ser Arg Gln Asn Leu Leu Arg Glu Leu Ile Met Leu Val

1 5 10 15

Gly Asn Met Ser His Gln

20

<210> 451

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 451

Gln Asp Thr Ser Arg His Met Leu Leu Arg Glu Phe Met Met Leu Val

1 5 10 15

Gly Glu Met Ile Gln Gly

20

<210> 452

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 452

Asp Gln Asn Ser Arg Gln Met Leu Leu Ser Asp Leu Met Ile Leu Val

1 5 10 15

Gly Ser Met Ile Gln Gly

20

<210> 453

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 453

Asn Val Phe Phe Gln Trp Val Gln Lys His Gly Arg Val Val Tyr Gln

1 5 10 15

Trp Leu Asp Ile Asn Val

20

<210> 454

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<400> 454

Phe Asp Phe Leu Gln Trp Leu Gln Asn His Arg Ser Glu Val Glu His

1 5 10 15

Trp Leu Val Met Asp Val

20

<210> 455

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is M or I

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is L or F

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is E, Q or D

<400> 455

Xaa Glu Met Leu Xaa Ser Leu Xaa Xaa Leu Leu

1 5 10

<210> 456

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myostatin Binding Peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is Q, D or E

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is S, Q, D or E
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa is any amino acid
 <220><221>
 > MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa is L, W, F or Y
 <400> 456
 Leu Xaa Xaa Leu Leu Xaa Xaa Leu
 1 5
 <210> 457
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa is R or D
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is any amino acid
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa is A, T, S or Q
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)

 <223> Xaa is L or M
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa is L or S
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is F or E

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is W, F or C

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> Xaa is L, F, M or K

<400> 457

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 458

<211> 66

<212> DNA

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 458

cgtatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag aaattgttcc aatgtctaaa 60

gctggt 66

<210> 459

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 459

cgtatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag aaattgttcc aatgtctaaa 60

gctcgt 66

<210> 460

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 460
cgtatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag atattgttcc aatgtctaaa 60
ccatct 66
<210> 461
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 461
ggtatggaaa tgcttgaatc tctttttgaa cttcttcaag aaattgttcc aatgtctaaa 60
gctcca 66
<210> 462
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 462
cgtatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag atattgttcc aatttctaat 60
ccacca 66
<210> 463
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400>
> 463
cgtattgaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttcaag aaattgttcc aatttctaaa 60
gctgaa 66
<210> 464
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 464

cgatatggaaa tgcttcaatc tcttcttgaa cttcttaaag atattgttcc aatgtctaataat 60

gctcgt 66

<210> 465

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 465

cgatatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag aaattgttcc aacttctaataat 60

ggtact 66

<210> 466

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 466

cgatatggaaa tgcttgaatc tctttttgaa cttcttaaag aaattgttcc aatgtctaaa 60

gctggt 66

<210> 467

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 467

cgatatggaaa tgcttggttc tcttcttgaa cttcttaaag aaattgttcc aatgtctaaa 60

gctcgt 66

<210> 468

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 468

caaatggaac ttcttgattc tctttttgaa cttcttaaag aaattgttcc aaaatctcaa 60

ccagct 66

<210> 469

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 469

cgtatggaaa tgcttgattc tcttcttgaa cttcttaaag aaattgttcc aatgtctaat 60

gctcgt 66

<210> 470

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400>

> 470

cgtatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttcattg aaattgttcc aatgtctcaa 60

gctgggt 66

<210> 471

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 471

caaatggaaa tgcttgaatc tcttcttcaa cttcttaaag aaattgttcc aatgtctaaa 60

gcttct 66

<210> 472

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 472

cgatatgaaa tgcttgattc tcttcttgaa cttcttaaag atatggttcc aatgactact 60
 ggtgct 66
 <210> 473
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 473
 cgatttgaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag atatggttcc aatggctaata 60
 gcttct 66
 <210> 474
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 474
 cgatatgaaa tgcttgaatc tcttcttcaa cttcttaatg aaattgttcc aatgtctcgt 60
 gctcgt 66
 <210> 475
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 475
 cgatatgaaa tgcttgaatc tctttttgat cttcttaaag aacttgttcc aatgtctaaa 60
 ggtgtt 66
 <210> 476
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 476
 cgatttgaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag atatgttcc aattcaaaaa 60

gctcgt 66

<210> 477

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400>

> 477

cgtatggaac ttcttgaatc tctttttgaa cttcttaaag atatggttcc aatgtctgat 60

tcttct 66

<210> 478

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 478

cgtatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa gttcttcaag aaattgttcc acgtgctaaa 60

ggtgct 66

<210> 479

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 479

cgtatggaaa tgcttgattc tcttcttcaa cttcttaatg aaattgttcc aatgtctcat 60

gctcgt 66

<210> 480

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 480

cgtatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag atatggttcc aatgtctaat 60

gctggt	66
<210> 481	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 481	
cgtatggaaa tgcttcaatc tctttttgaa cttcttaaag gtaggttcc aatttctaaa	60
gctggt	66
<210> 482	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 482	
cgtatggaaa tgcttgaatc tcttcttgaa cttcttaaag aaattgttcc aaattctact	60
gctgct	66
<210> 483	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 483	
cgtatggaaa tgcttcaatc tcttcttgaa cttcttaaag aaattgttcc aatttctaaa	60
gctggt	66
<210> 484	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400>	
> 484	
cgtattgaaa tgcttgatc tcttcttgaa cttcttaatg aacttgttcc aatgtctaaa	60

gctcgt	66
<210> 485	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 485	
gattggcgtg ctactcttct taaagaattt tggcaacttg ttgaaggtct tggtgataat	60
cttggtt	66
<210> 486	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 486	
gatggtcgtg ctactcttct tactgaattt tggcaacttg ttcaaggtct tggcaaaaa	60
gaagct	66
<210> 487	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 487	
cttgctcgtg ctactcttct taaagaattt tggcaacttg ttgaaggtct tggtgaaaaa	60
gttggtt	66
<210> 488	
<211> 66	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide	
<400> 488	
ggttctcgtg atactcttct taaagaattt tggcaacttg ttgttggtct tggtgatatg	60
caaaact	66

<210> 489
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 489
 gatgctcgtg ctactcttct taaagaattt tggcaacttg ttgatgctta tggatgctgt 60

 atgggtt 66
 <210> 490
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 490
 aatgatcgtg ctcaacttct tcgtgatttt tggcaacttg ttgatggctt tgggttataa 60
 tcttgg 66
 <210> 491
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400>
 > 491
 ggtgttcgtg aaactcttct ttatgaactt tggatcttct ttaaaggctt tgggtgctaat 60
 caagggt 66
 <210> 492
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 492
 caagctcgtg ctactcttct taaagaattt tgtcaacttg ttggttgtca aggtgataaa 60
 ctttct 66
 <210> 493

<211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 493
 caagaacgtg ctactcttct taaagaattt tggcaacttg ttgctggtct tggtaaaat 60
 atgcgt 66
 <210> 494
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 494
 tctggtcgtg ctactcttct taaagaattt tggcaacttg ttcaaggtct tggagaatat 60
 cgttgg 66

<210> 495
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 495
 actatgcgtg ctactcttct taaagaattt tggctttttg ttgatggtca acgtgaaatg 60
 caatgg 66
 <210> 496
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 496
 ggtgaacgtg ctactcttct taatgatttt tggcaacttg ttgatggtca aggtgataat 60
 actggt 66
 <210> 497

<211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 497
 gatgaacgtg aaactcttct taaagaattt tggcaacttg ttcattggtg gggtgataat 60
 gttgct 66
 <210> 498
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400>
 > 498
 ggtggctcgtg ctactcttct taaagaactt tggcaacttc ttgaaggta aggtgctaata 60
 cttgtt 66
 <210> 499
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 499
 actgctcgtg ctactcttct taatgaactt gttcaacttg ttaaaggta tggtgataaa 60
 cttgtt 66
 <210> 500
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 500
 ggtatgcgtg ctactcttct tcaagaattt tggcaacttg ttggtggtca aggtgataat 60
 tggatg 66
 <210> 501
 <211> 66

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 501
 tctactcgtg ctactcttct taatgatctt tggcaactta tgaaagggtg ggctgaagat 60
 cgtggt 66

<210> 502
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 502
 tctgaacgtg ctactcttct taaagaactt tggcaacttg ttggtggttg gggtgataat 60
 tttggt 66

<210> 503
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 503
 gttggtcgtg ctactcttct taaagaattt tggcaacttg ttgaaggctt tgttggtcaa 60
 tctcgt 66

<210> 504
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Peptibody
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (62)..(62)
 <223> Xaa = Fc
 <400> 504
 Met Gly Ala Gln Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His Phe Trp Cys Tyr
 1 5 10 15

Asp Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser

20 25 30

Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His

35 40 45

Phe Trp Cys Tyr Asp Leu Leu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Xaa

50 55 60

<210> 505

<211> 129

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 505

tggtatccgt gttatgaggg tcacttctgg tgctacgac tgggttctgg ttccactgct 60

tcttctgggt ccggttccgc tactggttgg taccctgtgt acgaaggtca cttttggtgt 120

tatgatctg 129

<210> 506

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 506

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Trp Tyr Pro Cys Tyr Glu Gly His

1 5 10 15

Phe Trp Cys Tyr Asp Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly

20 25 30

Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Trp Tyr Pro Cys

35 40 45

Tyr Glu Gly His Phe Trp Cys Tyr Asp Leu Leu Glu

50 55 60

<210> 507
 <211> 129
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 507
 tggatccgt gttatgaggg tcacttctgg tgctacgac tgggttctgg ttccactgct 60
 tcttctgggt cgggttcgc tactggttgg taccgtgct acgaaggtca cttttggtgt 120
 tatgatctg 129

<210> 508
 <211> 62
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence
 <220><223> Peptibody
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (62)..(62)
 <223> Xaa = Fc
 <400> 508
 Met Gly Ala Gln Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp Val Gln Cys Tyr
 1 5 10 15
 Gln Phe Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser
 20 25 30
 Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp
 35 40 45
 Val Gln Cys Tyr Gln Phe Leu Glu Gly Gly Gly Gly Xaa
 50 55 60

<210> 509
 <211> 129
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 509
 atctttggct gtaaatgggtg ggacgttcag tgctaccagt tcggttctgg ttccactgct 60

tcttctgggtt ccggttcgc tactggtatc ttcggttgca agtgggtggga tgtacagtgt 120

tatcagttt 129

<210> 510

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 510

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp

1 5 10 15

Val Gln Cys Tyr Gln Phe Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly

20 25 30

Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ile Phe Gly Cys

35 40 45

Lys Trp Trp Asp Val Gln Cys Tyr Gln Phe Leu Glu

50 55 60

<210> 511

<211> 129

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 511

atctttggct gtaaatgggtg ggacgttcag tgctaccagt ttcggttctgg ttccactgct 60

tcttctgggtt ccggttcgc tactggtatc ttcggttgca agtgggtggga tgtacagtgt 120

tatcagttt 129

<210> 512

<211> 62

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (62)..(62)

<223> Xaa = Fc

<400> 512

Met Gly Ala Gln Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp Val Asp Cys Tyr

1 5 10 15

Gln Phe Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser

20 25 30

Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp

35 40 45

Val Asp Cys Tyr Gln Phe Leu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Xaa

50 55 60

<210> 513

<211> 129

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 513

atctttggct gtaagtgggtg ggacgttgac tgctaccagt tcggttctgg ttccactgct 60

tcttctgggtt ccggttccgc tactgggtatc ttcggttgca aatggtggga cgttgattgt 120

tatcagtttt 129

<210> 514

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 514

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Ile Phe Gly Cys Lys Trp Trp Asp

1 5 10 15

Val Asp Cys Tyr Gln Phe Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly
20 25 30

Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ile Phe Gly Cys
35 40 45

Lys Trp Trp Asp Val Asp Cys Tyr Gln Phe Leu Glu
50 55 60

<210> 515

<211> 129

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 515

atcttttgct gtaagtgggtg ggacgttgac tgctaccagt tcggttctgg ttccactgct 60

tcttctgggtt ccggttccgc tactggtatc ttcggttgca aatggtggga cgttgattgt 120

tatcagtttt 129

<210> 516

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 516

caggttgaat cccgtcagca gctgctgatg tggctggacc agaaactggc ttccggtccg 60

cagggt 66

<210> 517

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 517

cgtatggaac tgctggaatc cctgttcgaa ctgctgaaag aaatggttcc gcgttccaaa 60

gctgtt 66

<210> 518

<211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 518
 caggctgttt ccctgcagca cctgctgatg tggctggacc agaaactggc ttccggtccg 60
 cagcac 66
 <210> 519
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 519
 gacgaagact ccctgcagca gctgctgatg tggctggacc agaaactggc ttccggtccg 60
 cagctg 66
 <210> 520
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 520
 ccggttgctt ccctgcagca gctgctgac tggctggacc agaaactggc tcagggtccg 60
 cacgct 66
 <210> 521
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400>
 > 521
 gaagttgacg aactgcagca gctgctgaac tggctggacc aaaaactggc ttccggtccg 60
 ctgcag 66
 <210> 522
 <211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 522

gacgttgaat ccctggaaca gctgctgatg tggctggacc accagctggc ttcgggtccg 60

cacggt 66

<210> 523

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 523

caggttgact ccctgcagca gggtctgctg tggctggaac aaaaactggc tctgggtccg 60

caggtt 66

<210> 524

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 524

ggtgacgaat ccctgcagca cctgctgatg tggctggaac agaaactggc tctgggtccg 60

cacggt 66

<210> 525

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 525

cagatcgaat tgctggaatc cctgctggac ctgctgcgtg acatggttcc gatgtccaac 60

gctttc 66

<210> 526

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 526

gaagttgact ccctgcagca gctgctgatg tggctggacc agaaactggc ttccggtccg 60

caggct 66

<210> 527

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 527

gaagacgaat ccctgcagca gctgctgata tacctggaca aaatgctgtc ctccggtccg 60

caggtt 66

<210> 528

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400>

> 528

gctatggacc agctgcacca gctgctgata tggctggacc aaaaactggc ttccggtccg 60

caggct 66

<210> 529

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 529

cgtatcgaat tgctggaatc cctgctggaa ctgctggacg aaatcgctct gatcccgaaa 60

gcttgg 66

<210> 530

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 530

gaagttgttt ccctgcagca cctgctgatg tggctggaac acaaactggc ttccggtccg 60
gacggt 66

<210> 531

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 531

ggtggtgaat ccctgcagca gctgctgatg tggctggacc agcagctggc ttccggtccg 60
cagcgt 66

<210> 532

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 532

ggtgttgaat ccctgcagca gctgctgac ttcttgacc acatgctggt ttccggtccg 60
cacgac 66

<210> 533

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 533

aacgttgaat ccctggaaca cctgatgatg tggctggaac gtctgctggc ttccggtccg 60

tacgct 66

<210> 534

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 534

caggttgact ccctgcagca gctgctgatc tggctggacc accagctggc ttccggtccg 60

aaacgt 66

<210> 535

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400>

> 535

gaagttgaat ccctgcagca gctgctgatg tggctggaac acaaactggc tcagggtccg 60

cagggt 66

<210> 536

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 536

gaagttgact ccctgcagca gctgctgatg tggctggacc agaaactggc ttccggtccg 60

cacgct 66

<210> 537

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 537

gaagttgact ccctgcagca gctgctgatg tggctggacc agcagctggc ttccggtccg 60

cagaaa 66

<210> 538

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 538

ggtgttgaac agctgccgca gctgctgatg tggctggaac agaaactggc ttccggtccg 60

cagcgt 66

<210> 539

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 539

ggtgaagact ccctgcagca gctgctgatg tggctggacc agcagctggc tgctgggtccg 60

caggtt 66

<210> 540

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 540

gctgacgact ccctgcagca gctgctgatg tggctggacc gtaaaactggc ttccggtccg 60

cacgtt 66

<210> 541

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 541

ccggttgact ccctgcagca gctgctgac tggctggacc agaaactggc ttccggtccg 60

cagggt 66

<210> 542

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400

> 542

cagtcgccgtg ctaccctgct gaaagaattc tggcagctgg ttgaaggctt gggtgacaaa 60

caggct 66

<210> 543

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 543

gaaatccgtg ctaccctgct gaaagaattc tggcagctgg ttgacgaatg gcgtgaacag 60

ccgaac 66

<210> 544

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 544

cagctgcgtg ctaccctgct gaaagaattc ctgcagctgg ttcacggctt gggtgaaacc 60

gactcc 66

<210> 545

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 545

accacgcgtg ctaccctgct gaaagaattc tggcagctga tcgaaggctt gggtggtaaa 60

cacgtt 66

<210> 546

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 546
cactaccgtg ctaccctgct gaaagaattc tggcagctgg ttgacggtct gcgtgaacag 60
ggtgtt 66

<210> 547
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 547
cagtcaccgtg ttaccctgct gcgtgaattc tggcagctgg ttgaatccta ccgtccgata 60
gttaac 66

<210> 548
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 548
ctgtcccgctg ctaccctgct gaacgaattc tggcagttcg ttgacggtca gcgtgacaaa 60
cgtatg 66

<210> 549
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400>
> 549
tgggaccgtg ctaccctgct gaacgacttc tggcacctga tggaagaact gtcccagaaa 60
ccgggt 66

<210> 550
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 550

caggaacgtg ctaccctgct gaaagaattc tggcgtatgg ttgaaggctt gggtaaaaac 60

cgtggt 66

<210> 551

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 551

aacgaacgtg ctaccctgct gcgtgaattc tggcagctgg ttggtgggta cgggtgtaac 60

cagcgt 66

<210> 552

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 552

cagcgtgaat ggtaccctg ctacgggtgt cacctgtggt gctacgacct gcacaaagct 60

<210> 553

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 553

atctccgctt ggtactcctg ctacgctggt cacttctggt gctgggacct gaaacagaaa 60

<210> 554

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 554

tggaccggtt ggtaccagt ctacgggtgt cacctgtggt gctacgacct gcgtcgtaaa 60

<210> 555

<211> 60

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 555
 aaaaccttct ggtacccgtg ctacgacggt cacttctggt gctacaacct gaaatcctcc 60
 <210> 556
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 556
 gaatcccgtt ggtacccgtg ctacgaaggt cacctgtggt gcttcgacct gaccgaaacc 60
 <210> 557
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 557
 aatgtttttt ttcaatgggt tcaaaaacat ggtcgtgttg tttatcaatg gcttgatatt 60

aatgtt 66
 <210> 558
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 558
 tttgattttc ttcaatggct tcaaaatcat cgttctgaag ttgaacattg gcttgttatg 60
 gatgtt 66
 <210> 559
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400

> 559

catcaacgtg atatgtctat gctttgggaa cttcttgatg ttcttgatgg tcttcgtcaa 60

tattct 66

<210> 560

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 560

actcaacgtg atatgtctat gcttgatggg cttcttgaag ttcttgatca acttcgtcaa 60

caacgt 66

<210> 561

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 561

acctccgtg acatgtcctt gctgtgggaa ctgctggaag aactggaccg tctgggtcac 60

cagcgt 66

<210> 562

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 562

atgcaacatg atatgtctat gctttatggg cttgttgaac ttcttgaatc tcttggtcat 60

caaatt 66

<210> 563

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 563
 tggaatcgtg atatgcgtat gcttgaatct ctttttgaag ttcttgatgg tcttcgtcaa 60
 caagtt 66
 <210> 564
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 564
 ggttatcgtg atatgtctat gcttgaaggt cttcttgctg ttcttgatcg tcttggtcca 60
 caactt 66
 <210> 565
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 565
 actcaacgtg atatgtctat gcttgaaggt cttcttgaag ttcttgatcg tcttggtcaa 60
 caacgt 66
 <210> 566
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400>
 > 566
 tggtagcgtg acatgtccat gctggaaggt ctgctggaag ttctggaccg tctgggtcag 60
 cagcgt 66
 <210> 567
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 567

actcaaaatt ctcgtaaatt gcttctttct gattttatga tgcttggtgg ttctatgatt 60

caaggt 66

<210> 568

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 568

atgcaaaatt ctcgtaatat ttttctttct gaatttatga tgcttggtgg ttctattatg 60

catgggt 66

<210> 569

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 569

cacgacaact cccgtcagat gctgctgtcc gacctgctgc acctgggtgg taccatgac 60

cagggt 66

<210> 570

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 570

atggaaaact cccgtcagaa cctgctgcgt gaactgatca tgctgggtgg taacatgtcc 60

caccag 66

<210> 571

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 571

caggacacct cccgtcacat gctgctgcgt gaattcatga tgctggttgg tgaaatgac 60

cagggt 66

<210> 572

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 572

gaccagaact cccgtcagat gctgctgtcc gacctgatga tcctggttgg ttccatgac 60

cagggt 66

<210> 573

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400>

> 573

gttgctcttc atggcfaatg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca acgtgaaggt 60

<210> 574

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 574

tatccagaac aaggtctttg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aactcttgct 60

<210> 575

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 575

ggtctgaacc aggtcactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccga ggactccaac 60

<210> 576

<211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 576
 atgattactc aaggtcaatg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca accatctggt 60
 <210> 577
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 577
 gctggtgctc aggaacactg caccggttgg ccgtggatgt gcgtccgaa cgactggatc 60
 <210> 578
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 578
 ggtgttaacc aggtcagtg caccggttgg cgttggatgt gcccgccgaa cggttgggaa 60
 <210> 579
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 579
 ctggctgacc acggtcagtg catccgttgg ccgtggatgt gcccgccgga aggttgggaa 60
 <210> 580
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 580

atcctggaac aggctcagtg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gcgtggtggt 60
 <210> 581
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 581
 actcaaac tc atgctcaatg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca atgggaaggt 60
 <210> 582
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 582
 gttgttactc aaggtcattg tactctttgg ccatggatgt gtccaccaca acgttggcgt 60
 <210> 583
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 583
 atttatccac atgatcaatg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca accatatcca 60
 <210> 584
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 584
 tcttattggc aaggtcaatg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca atggcgtggt 60
 <210> 585
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 585

atgtggcaac aaggtcattg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggttggggt 60

<210> 586

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 586

gaattcaccc agtggcactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gcgttcccag 60

<210> 587

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 587

ctggacgacc agtggcagtg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gggtttctcc 60

<210> 588

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 588

tatcaaactc aaggtctttg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca atctcaacgt 60

<210> 589

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 589

gaatctaadc aaggtcaatg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggtggttgg 60

<210> 590

<211> 60

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 590
 tggaccgacc gtggtcctg caccgttgg ccgtggatgt gcccgccgca ggctaaccgt 60
 <210> 591
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 591
 gttggtaccc agggtcagt caccgttgg ccgtggatgt gcccgccgta cgaaaccgt 60
 <210> 592
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 592
 ccgtacgaac agggtaaatg caccgttgg ccgtggatgt gcccgccgta cgaagttgaa 60
 <210> 593
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 593
 tccgaatacc aggtctctg caccgttgg ccgtggatgt gcccgccgca gggttggaaa 60
 <210> 594
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 594
 accttctccc aggtcactg caccgttgg ccgtggatgt gcccgccgca gggttggggt 60

<210> 595
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 595
 ccgggtgctc acgaccactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gtcccgttac 60
 <210> 596
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 596
 gttgctgaag aatggcactg ccgtcgttgg ccgtggatgt gcccgccgca ggactggcgt 60
 <210> 597
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 597
 gttggtaccc aggtcactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gccggctggt 60
 <210> 598
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 598
 gaagaagacc aggtcactg ccgttcctgg ccgtggatgt gcccgccgca gggttgggtt 60
 <210> 599
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 599
gctgacaccc agggctcactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gcactgggtc 60
<210> 600
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 600
tccggtccgc agggctcactg caccggttgg ccgtggatgt gcgctccgca gggttgggtc 60
<210> 601
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 601
accctgggtc agggctcactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gcgttgggtt 60
<210> 602
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 602
ggtatggctc acggtaaatg caccggttgg gcttggatgt gcccgccgca gtcctggaaa 60
<210> 603
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
<400> 603
gaactgtacc acggtcagtg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gtcctgggct 60
<210> 604
<211> 60
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 604

gttgctgacc acggctactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gggttggggt 60

<210> 605

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 605

ccggaatccc agggctactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gggttggggt 60

<210> 606

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 606

atccccgctc acggctactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gcgttggcgt 60

<210> 607

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 607

ttcacggttc acggctactg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgta cggttgggtt 60

<210> 608

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 608

ccagatttcc caggctattg tactcgttgg cgttggatgt gtccaccaca aggttgggaa 60

<210> 609

<211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 609
 cagctgtggc aggtccgtg caccagtg ccgtggatgt gcccgccgaa aggtcggttac 60
 <210> 610
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 610
 cacgctaacg acgtcactg caccgttgg cagtggatgt gcccgccgca gtgggtgtgt 60
 <210> 611
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 611
 gaaaccgacc acgtctgtg caccgttgg ccgtggatgt gcccgccgta cgtgtctcgt 60
 <210> 612
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 612
 ggtacctggc aggtctgtg caccgttgg ccgtggatgt gcccgccgca gggttggcag 60
 <210> 613
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 613

gttgctaccc agggtcagtg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gggttggggt 60

<210> 614

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 614

gttgctaccc agggtcagtg caccggttgg ccgtggatgt gcccgccgca gcgttggggt 60

<210> 615

<211> 74

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 615

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Leu Ala Asp His Gly Gln Cys Ile

1 5 10 15

Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Glu Gly Trp Glu Leu Glu Gly Ser

20 25 30

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

35 40 45

Ser Ala Thr Gly Leu Ala Asp His Gly Gln Cys Ile Arg Trp Pro Trp

50 55 60

Met Cys Pro Pro Glu Gly Trp Glu Leu Glu

65 70

<210> 616

<211> 198

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 616

cttctgcatc atggtcaatg tttctgttgg ccatggatgt gtccaccaga aggttgggaa 60
 ctctagggtt cccgttccgc taccggcggc tctggctcca ctgtttcttc cggttccggt 120
 tctgtactg gtctggctga ccacggtcag tgcattccgtt ggccgtggat gtgcccggcg 180
 gaaggttggg aactggaa 198

<210> 617

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 617

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Leu Ala Asp His Gly Gln Cys Ile

1 5 10 15

Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Glu Gly Trp Glu Gly Ser Gly Ser

20 25 30

Ala Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala

35 40 45

Thr Gly Leu Ala Asp His Gly Gln Cys Ile Arg Trp Pro Trp Met Cys

50 55 60

Pro Pro Glu Gly Trp Glu

65 70

<210> 618

<211> 186

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 618

cttctgcatc atggtcaatg tttctgttgg ccatggatgt gtccaccaga aggttgggaa 60

ggttccggtt ccgtaccgg cggtcttggc ggtggcgtt cttccggttc cggttctgct 120

actggtctgg ctgaccacgg tcagtgcac cgttggccgt ggatgtgtcc accagaaggt 180

tgggaa 186

<210> 619

<211> 74

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 619

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Ser Glu Tyr Gln Gly Leu Cys Thr

1 5 10 15

Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Lys Leu Glu Gly Ser

20 25 30

Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

35 40 45

Ser Ala Thr Gly Ser Glu Tyr Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp

50 55 60

Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Lys Leu Glu

65 70

<210> 620

<211> 198

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 620

tctgaatatc aaggtctttg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggttggaaa 60

ctcgagggtt ccggttccgc taccggcggc tctggctcca ctgcttcttc cggttccggt 120

tctgctactg gttctgagta tcaaggcctc tgtactcgct ggccatggat gtgtccacca 180

caaggctgga agctggaa 198

<210> 621

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 621

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Ser Glu Tyr Gln Gly Leu Cys Thr

1 5 10 15

Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Gly Ser

20 25 30

Ala Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala

35 40 45

Thr Gly Ser Glu Tyr Gln Gly Leu Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys

50 55 60

Pro Pro Gln Gly Trp Lys

65 70

<210> 622

<211> 186

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 622

tctgaatatac aaggtctttg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggttgga 60

ggttccggtt ccgctaccgg cggtcttggc ggtggcgctt cttccggttc cggttctgct 120

actggttctg agtatcaagg cctctgtact cgctggccat ggatgtgtcc accacaaggt 180

tggaaa 186

<210> 623

<211> 74

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 623

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Thr Phe Ser Gln Gly His Cys Thr

1	5	10	15
Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Gly Leu Glu Gly Ser			
	20	25	30
Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly			
	35	40	45
Ser Ala Thr Gly Thr Phe Ser Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp			
	50	55	60
Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Gly Leu Glu			
65	70		

<210> 624

<211> 198

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 624

actttttctc aaggtcatgt tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggttggggt	60
ctcgagggtt cgggttcgcg taccggcggc tctggctcca ctgcttcttc cggttccggt	120
tctgctactg gtacttttct tcaaggccat tgtactcgct ggccatggat gtgtccacca	180
caaggctggg gcctggaa	198

<210> 625

<211> 74

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 625

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Val Ala Asp His Gly His Cys Thr

1 5 10 15
 Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Gly Leu Glu Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly
 35 40 45
 Ser Ala Thr Gly Val Ala Asp His Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp

50 55 60
 Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Gly Leu Glu

65 70

<210> 626

<211> 198

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 626

gttgctgatac atggtcattg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggttggggt 60

ctcgagggtt cgggttcgc aaccggcggc tctggctcca ctgcttcttc cggttccggt 120

tctgctactg gtgttctga ccacggcac tgcacccgtt ggccgtgat gtgcccgcg 180

cagggttggg gtctggaa 198

<210> 627

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 627

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Val Ala Asp His Gly His Cys Thr

1 5 10 15

Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Gly Gly Ser Gly Ser

20 25 30

Ala Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala

35 40 45
Thr Gly Val Ala Asp His Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Val Cys
50 55 60
Pro Pro Gln Gly Trp Gly

65 70

<210> 628

<211> 186

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 628

gttgctgac atggtcatgt tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggttggggt 60

ggttccgggtt ccgtaccgg cggtctctggc ggtgggtgctt cttccgggtc cggttctgct 120

actggtgttg ctgaccacgg tctactgcacc cgttggccgt ggggtgtgtcc accacaaggt 180

tgggggt 186

<210> 629

<211> 74

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Peptibody

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa = Fc

<400> 629

Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Pro Glu Ser Gln Gly His Cys Thr

1 5 10 15

Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Gly Leu Glu Gly Ser

20 25 30
Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly

35 40 45
Ser Ala Thr Gly Pro Glu Ser Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp

50 55 60
Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Gly Leu Glu
65 70
<210> 630
<211> 198
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide

<400> 630
ccagaatctc aaggtcatgt tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggttggggt 60
ctcgagggtt ccggttcgcg taccggcggc tctggctcca ctgcttcttc cggttccggt 120
tctgctactg gtccggaatc ccagggtcac tgcaccggtt ggccgtggat gtgcccgcg 180
cagggttggg gtctggaa 198
<210> 631
<211> 70
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Peptibody
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= Fc
<400> 631
Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gln Pro Glu Ser Gln Gly His Cys Thr

1 5 10 15
Arg Trp Pro Trp Met Cys Pro Pro Gln Gly Trp Gly Gly Ser Gly Ser
20 25 30
Ala Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala
35 40 45
Thr Gly Pro Glu Ser Gln Gly His Cys Thr Arg Trp Pro Trp Met Cys
50 55 60
Pro Pro Gln Gly Trp Gly
65 70

<210> 632
 <211> 186
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Nucleotide sequence encoding Myostatin Binding Peptide
 <400> 632
 ccagaatctc aaggtcattg tactcgttgg ccatggatgt gtccaccaca aggttggggt 60
 ggttcgggtt cgcctaccgg cggctctggc ggtggtgctt cttccgggtc cggttctgct 120
 actggtccgg aatcccaggg tctctgcacc cgttggccgt ggatgtgtcc accacaaggt 180
 tgggggt 186
 <210> 633
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Myostatin Binding Peptide
 <400> 633
 Trp Met Cys Pro Pro
 1 5
 <210> 634
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Randomly generated nucleotide sequence
 <220><221> misc_feature
 <222> (16)..(17)
 <223> N = A, T, C, or G are equally represented
 <220><221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> K = G and T are equally represented
 <220><221> misc_feature
 <222> (19)..(20)
 <223> N = A, T, C, or G are equally represented
 <220>
 <221> misc_feature

<222> (21)..(21)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (22)..(23)

<223> N = A, T, C, or G are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (36)..(36)

<223

> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (45)..(45)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (48)..(48)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (51)..(51)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (54)..(54)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (57)..(57)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (60)..(60)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (63)..(63)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (66)..(66)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (67)..(68)

<223> N = A, T, C, or G are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (69)..(69)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (70)..(71)

<223> N = A, T, C, or G are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (72)..(72)

<223> K = G and T are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (73)..(74)

<223> N = A, T, C, or G are equally represented

<220><221> misc_feature

<222> (75)..(75)

<223> K = G and T are equally represented

<400> 634

cacagtgcac agggtnnknn knkckaggk caktgkackc gktgkccktg katktgkcek 60

ccktaknnkn nknnkcatc tctcgagatc 90